Generated on 2019-09-14 19:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

UNIVERSITY OF ILLINOIS
LIBRARY

Class 589.05 Book CE Volume ~~Serial~~ 58

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

The person charging this material is responsible for its return on or before the **Latest Date** stamped below.

Theft, mutilation, and underlining of books are reasons for disciplinary action and may result in dismissal from the University.

University of Illinois Library

JUN 28 1968

L161—O-1096

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. 58. Band.

Orginale.

Generated on 2019-09-14 19:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler
in Greifswald,

Geh. Med.-Rat Professor Dr. R. Pfeiffer
in Breslau

und

Geh. Reg.-Rat Professor Dr. M. Braun
in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. 58. Band.

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

Originale.

Mit 13 Tafeln und 21 Abbildungen im Texte.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1911.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Fig. 1. Culture en bouillon glucosé-lactosé de 24 heures.

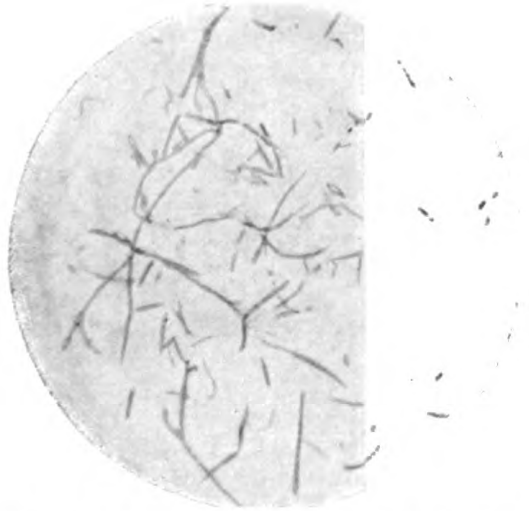


Fig. 2. Spores, culture en gélose ordinaire.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

589.05
C7
v.58

Generated on 2019-09-14 19:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 58. Heft 1.
Ausgegeben am 6. März 1911.

Nachdruck verboten.

Bacillus pappulus.

[Travail du Laboratoire de Mr le Prof. Metchnikoff à l'Institut Pasteur de Paris.]

Par le Dr. **F. De Gasperi.**

Avec 1 planche.

C'est un microbe anaérobie que nous avons isolé de quelques saucissons secs en mauvaises conditions de conservation. Ces saucissons présentaient en effet des dépressions irrégulières très marquées, en plusieurs traits de leur surface, et à la palpation on les sentait excessivement durs; coupés, ils exhalaient une odeur désagréable de rance.

Ce microbe ne nous paraissant pas un anaérobie déjà étudié, nous allons en donner une description un peu détaillée.

C'est un bacille qui dans les cultures jeunes, de 24—36 heures, a presque la même taille que le B. perfringens; on trouve des éléments de 4—6—9 jusqu'à 12 μ de longueur et 0,7—0,8 μ de largeur, légèrement courbés, aux bouts un peu arrondis, quelquefois réunis au nombre de 3—5 et plus à constituer des chaînettes particulières. Dans les cultures âgées d'une semaine environ, soit dans les milieux liquides ou solides, il devient plus mince, s'allonge et il mesure 11—14 μ de long; il n'est pas rare de rencontrer des éléments encore plus longs, légèrement courbés, qui gagnent même les 20 μ. Dans les cultures encore plus âgées il acquiert la forme filamenteuse; les éléments, très longs, s'entrelacent, s'entortillent de façon à former des espèces de pelotons. Il donne des spores, soit terminales, soit libres, ovalaires, de longueur moyenne de 3 μ et larges 1,4 μ environ. Il est donné d'un faible mouvement oscillatoir in situ, qui n'est que du mouvement brownien; il est donc immobile.

Il se colore facilement et bien par toutes les méthodes ordinaires, mais il ne garde pas le Gram. Il n'est pas coloré par l'iode.

C'est un anaérobie strict qui pousse à 30° et 37° C dont les spores résistent à l'ébullition de l'eau pendant deux minutes.

Dans la gélose sucrée profonde il donne en 24 heures des colonies irrégulières, blanchâtres, formées par un entrelacement bizarre de filaments qui rayonnent d'un centre opaque, rappelant la graine couronnée par son aigrette, du pissenlit (Taraxacum officinale). Cet aspect des colonies nous a engagé à lui donner le nom de Bac. pappulus. Ce milieu devient rapidement acide et il est fragmenté par une production abondante de gaz d'odeur de beurre rance. Dans les tubes de culture se dépose un liquide légèrement trouble. Dans la gélose ordinaire profonde ce bacille pousse également bien, mais un peu plus lentement. C'est surtout dans ce milieu qu'il donne facilement des spores. Sur gélose inclinée, les colonies après 3—4 jours acquièrent un aspect caractéristique: Elles sont arrondies, transparentes et se montrent constituées par des filaments enchevêtrés, ondulés, rappelant le typique caput medusae des colonies de la bactéridie charbonneuse.

227515
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dans la gélatine ordinaire et sucrée il ne pousse qu'à 37° C, produisant liquéfaction. Depuis les premiers jours le milieu est discrètement troublé; ensuite, vers le cinquième jour, il devient limpide, et dans le tube de culture se dépose un précipité floconneux, blanchâtre abondant.

Le bouillon ordinaire est légèrement troublé en deux ou trois jours. Ensuite il devient limpide et il s'y opère un faible dépôt poussiereux. Dans le bouillon sucré, au contraire, ce microbe pousse abondamment et déjà après 24 heures on constate un trouble considérable accompagné par une grande production de gaz. Aussi dans ce milieu s'opère un dépôt poussiéreux, mais plus abondant que dans le précédent, s'accroissant au fur et à mesure que le bouillon s'éclaircit.

Si à ces milieux liquides, peptonisés, sucrés ou non, l'on ajoute des cubes de blanc d'œuf cuit, le développement se vérifie d'une façon identique; l'albumine par contre n'est que faiblement attaquée et lentement digérée. L'attaque de l'albumine est plus évident sur des cubes de blanc d'œuf dans de l'eau physiologique.

Le lait est coagulé en 6—8 jours; le caillot est dur et il se retracte ensuite laissant exsuder une petite quantité de sérum acide, où sont de nombreux microbes sporulés. Il ne subit de modifications ultérieures. L'amidon cuit n'est pas modifié.

Ce microbe fait fermenter le lactose, le saccharose, en donnant les acidités respectives de 1,42 et 1,54 p. 1000 en H_2SO_4. Il exerce une action plus active sur le glucose, l'inuline et le maltose, en donnant respectivement les acidités d'arrêt de 2,74; 3,82; 3,92, p. 1000 en H_2SO_4.

Il donne de l'indol. Il ne s'est pas montré pathogène pour le cobaye et le lapin.

Les caractères chimiques de ce microbe nous permettent de le considérer comme un ferment mixte, parce qu'il attaque simultanément les sucres et, bien que faiblement, les albuminoïdes. Il va placé entre le bacille de Ghon et Sachs et le radiiformis de Rist et Guillemot. Il diffère du premier par ses caractères morphologiques, sa réaction chromophile, son immobilité et parce qu'il ne donne jamais la réaction de la granulose. Il en diffère encore par l'aspect de ses colonies, parce qu'il est un ferment très actif des sucres, surtout par son action typique sur le glucose, l'inuline et le maltose, et enfin parce qu'il ne pousse qu'à 30° et à 37° C.

Pour ce qui a rapport au B. radiiformis, notre bacille n'a en commun que la réaction chromophile et l'immobilité. Il en diffère par son aspect microscopique, parce qu'il donne des spores, par les caractères morphologiques de ses colonies et parce qu'il n'est pas pathogène pour le cobaye. Le B. radiiformis ne donne jamais de gaz; ses caractères chimiques n'ont pas encore été donnés.

Paris, Octobre 1910.

Bibliographie.

Ghon u. Sachs, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt I. Bd. 34, 35.)
Rist, Thèse de Paris. 1898.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen über die Tuberkuloseerreger der Kaltblüter.

III. Mitteilung.

Von **L. v. Betegh** in Fiume.

Mit 3 Tafeln.

Die Tuberkuloseerreger der Kaltblüter — Reptilien und Amphibien — bilden den Gegenstand zahlreicher Untersuchungen speziell seit der Zeit, seitdem Bataillon-Dubard-Terre in einem Karpfen einen, dem Tuberkuloseerreger der Warmblüter tinktoriell und morphologisch ganz ähnlichen, säurefesten Mikroorganismus gefunden haben. Nach dieser Entdeckung entstand die Frage, ob wir es mit dem spezifischen Tuberkulosevirus der Kaltblüter oder mit dem transmutierten Warmblütertuberkulosevirus zu tun haben. Die Frage ist jedoch endgültig noch nicht beantwortet, aber es werden täglich mehr und mehr Beweise zu Tage gefördert, daß man es hier mit dem spezifischen Tuberkulosevirus der Kaltblüter zu tun hat. Diese Meinung wird unter anderen auch dadurch gestützt, daß seit der Bataillon-Dubard-Terreschen Entdeckung verschiedene Forscher bei anderen Kaltblütern pathogene, säurefeste Bakterien nachgewiesen haben, welche den schon erwähnten tinktoriell und morphologisch vollkommen gleich sind. So fand Moeller den Blindschleichen-, Friedmann den Schildkröten- und Rupprecht den Froschtuberkulosebacillus.

Die Literatur dieser pathogenen, säurefesten Bakterien ist schon sehr umfangreich geworden. Wenn man dieselbe aber genauer durchforscht, dann kommt man zu dem Resultate, daß bei der Untersuchung dieser Säurefesten das Hauptgewicht auf die Frage der Pathogenität gelegt wurde, resp. auf das Studium, in welchem Verhältnisse diese zu den Erregern der Warmblütertuberkulose stehen. Dagegen fehlt eine genauere und detaillierte Beschreibung der erwähnten Bakterienarten hinsichtlich der strukturellen Feinheiten, der Artverschiedenheit oder Arteinheit etc. mit der neueren und vollkommeneren Färbetechnik gänzlich. Und das ist auch ganz natürlich. Zur Darstellung der sogenannten säurefesten Bakterien, das ist auch derjenigen der Kaltblütertuberkulose, bedient man sich auch heute noch immer der Ziehl-Neelsen oder Gabbetschen Methode, und man beschränkt sich bloß auf Grund der Säurefestigkeit der genannten Bakterien auf die Trennung derselben von anderen Bakterienarten. Auf dieser biochemischen Reaktion beruht ja die Gruppierung der Paratuberkulosebakterien — im Sinne Potet-Aujeszky —, welche oft irrtümlich auch Pseudotuberkulose genannt werden. Aber solche Untersuchungen, welche sich auf die in den einzelnen Tiergattungen beschriebenen Kaltblütertuberkulosebakterien beziehen, vom Standpunkte der Arteinheit oder Artverschiedenheit, fehlen meines Wissens gänzlich. Und speziell fehlen Untersuchungen über die Frage, ob die aus verschiedenen Kaltblütern isolierten Tuberkuloseerreger strukturelle, tinktorielle Unterschiede aufweisen, ob diese Unterschiede konstant oder auch gegenüber den Warmblütertuberkuloseerregern bestehen, und ob diese Eigenschaften bei allen bis jetzt bekannten Kaltblütertuberkulosebacillen sich nachweisen lassen, und schließlich, ob die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bis jetzt bekannten Bakterienarten als Artverschiedenheiten oder nur als an verschiedene Kaltblütertiergattungen angepaßte Varietäten einer gemeinsamen Art aufzufassen sind.

Zum Studium der feineren strukturellen Verhältnisse sind die oben erwähnten Färbeverfahren bei weitem nicht geeignet, was ich in einer schon früher veröffentlichten Arbeit nachgewiesen habe. Denn mit denselben kann man im besten Falle nur den Beweis erbringen, ob es sich im gegebenen Falle um sogenannte säurefeste Bakterien handelt oder nicht. Zur Darstellung der feineren Struktur sind nur diejenigen Methoden geeignet, mit welchen man nicht nur die Säure-, sondern auch die Alkohol- und Alkalifestigkeit prüfen kann. Ueber die Methode zur Darstellung feiner Bakterienstruktur habe ich schon in einer ausführlichen Arbeit berichtet. Beim Studium der Kaltblütertuberkulosebacillen, desgleichen bei demjenigen der Paratuberkulosegruppe, worüber ich später berichten werde, habe ich außer der Säurefestigkeit auch eingehend die Frage der Alkohol- und Alkalifestigkeit untersucht, d. h. ich habe solche biochemische Reaktionen herangezogen, welche geeignet erscheinen, die jetzige, ziemlich willkürliche Einteilung dieser Bakterienarten auf eine reellere Basis zu stellen. Inwieweit diese Untersuchungen bei der Differentialdiagnose nützlich gemacht werden können, werden wir bei dem systematischen Studium der Paratuberkulosegruppe sehen.

Bei der Untersuchung der Kaltblütertuberkulosebacillen habe ich das Hauptgewicht darauf gelegt, mit möglichst vom Grund auf verschiedenen Untersuchungsmethoden einerseits die feineren morphologischen und tinktoriellen Verhältnisse zu beobachten, behufs Feststellung eventueller Unterschiede, andererseits durch Reinzüchtung auf möglichst verschiedenen Nährböden zu verfolgen, ob die Stämme gleichen Alters in biologischer Hinsicht verwertbare Wachstumsunterschiede nachweisen lassen, nach welchen im gegebenen Falle die einzelnen Arten getrennt werden könnten.

Gegenstand meiner Untersuchungen bilden die Tuberkulosebacillen des Frosches, des Fisches, der Blindschleiche und der Schildkröte. Zum Studium der strukturellen Feinheiten wurden ausschließlich 6—8 Wochen alte Glyzerinagar-Reinkulturen verwendet. Auf diesem Nährboden wachsen sie nämlich sehr üppig. Bei der Beurteilung der Dicke und Länge der Bakterien wurde als Prototyp der Menschentuberkelbacillus betrachtet. Bei der Beurteilung der arteriösen oder venösen Tinktion wurden die Bakterien mit Karbolfuchsin zuerst gefärbt und nach entsprechender Entfärbung mit Mineralsäuren und Gegenfärbung mit alkoholischer resp. wässeriger Methylenblaulösung mit gleichfalls behandelten Menschentuberkulosebacillen verglichen. Diese letzteren bleiben, wie bekannt, unbedingt arteriös, die meisten der Paratuberkulosegruppe dagegen venös, resp. nehmen die sekundäre Farbe an. Die Alkoholfestigkeit prüfte ich folgendermaßen: Zwei Pendantpräparate von Tuberkelbacillen (Human) wurden, wie gewöhnlich, mit Karbolfuchsin gefärbt. Das eine Präparat wurde ohne weiteres untersucht, das andere in die folgende Farblösung gelegt:

Malachitgrün	1 g
Methylenblau	3 „
96-proz. Alkohol	50 „

Hier verblieb das Präparat genau 5 Minuten. Nachher wurde es mit Wasser abgespült, getrocknet und untersucht. Es erwies sich rein arteriös. Das Kontrollpräparat von Paratuberkulose (Tobler V.) des-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gleichen behandelt, gibt Karbolfuchsin total ab, und die Hülle überfärbt sich grünlichblau, die Sporen schwarzblau. Die Tuberkuloseerreger der Kaltblüter verhalten sich hinsichtlich der Alkoholfestigkeit derart ähnlich den echten Tuberkelbacillen, daß eine Unterscheidung derselben nur auf diese Weise erst bei größter Uebung möglich ist.

Außer der Untersuchung dieser Keime auf Säure- und Alkoholfestigkeit prüfte ich sie auch auf Alkalifestigkeit. In einer früher veröffentlichten Arbeit habe ich der Möglichkeit des Vorhandenseins der Alkalifestigkeit Erwähnung getan. Ganz unabhängig von mir entdeckte Gasis die dritte Reaktion, die eigentliche spezifische Reaktion der Tuberkelbacillen, die Alkalifestigkeit. Auf Grund eingehender biochemischer Studien kommt Gasis zu dem Resultate, daß die Säurefestigkeit der Tuberkelbacillen eine periodische ist, das heißt, sie sind nur in einem bestimmten Entwickelungsalter säure- resp. alkoholfest. Meine diesbezüglichen Befunde werden gleichzeitig mit den früheren Angaben von Marmorek und Kedrowski dadurch bestätigt. Gasis machte aber die wertvolle Entdeckung, daß die Tuberkelbacillen eine bei weitem konstantere biochemische Reaktion, die Alkalifestigkeit besitzen. Bei meinen Untersuchungen verfuhr ich genau nach der Vorschrift von Gasis.

I. Froschtuberkulosebacillen.

Dunkelfeldbeleuchtung. Mit dieser Beleuchtung sieht man doppelt konturierte Bakterien mit abgerundeten Enden, welche ein feinkörniges Plasma haben. Im Bakterienleibe sind die scharfkantigen, lichtbrechenden, ovoiden Sporen sichtbar, welche auch extracellulär zu finden sind. Die Bakterien haben keine Geißeln, sie sind unbeweglich.

Burrimethode. Die Bakterien sind an beiden Enden abgerundet und scharfkantig, mehr oder weniger gebogen. Das Protoplasma der kurzen Bakterien ist ziemlich homogen. Sie sind etwas kleiner als die Tuberkelbacillen. Zwischen den vollkommen entwickelten Bakterien sind feine, kurze Stäbchen sichtbar. Sie sind total homogen. In den sporulierenden Bakterien sind stark lichtbrechende Gebilde sichtbar, die Sporen, welche den anderen Bakteriensporen auch, was ihre lichtbrechende Eigenschaft anbelangt, sehr ähnlich sind. Die Hülle dieser Bakterien ist schwach lichtbrechend. Ein besonders interessantes Bild bieten diejenigen Bakterien, welche die Sporen an beiden Enden führen und deren Durchmesser den Querschnitt des Bakterienleibes überragt. In ziemlich bedeutender Menge sind sie auch außerhalb der Zelle sichtbar. Mitunter ist die Spore im mittleren Teile des Bakterienleibes zu finden, wo dann die Größendifferenzen noch auffallender sind. In einem Bacillus fand ich 2—3 solcher Gebilde. Lange Fäden oder Verzweigungen konnte ich nicht beobachten.

Vitalfärbung. Es ist besonders auffallend, daß bei der Vitalfärbung (Löfflers Methylenblau, Trichromin, Giemsa-Lösung) zuerst der zentrale Teil der Sporen tingiert wird. Die Sporen treten dadurch markant hervor, und man kann ringsherum um sie einen lichten, schmalen, ungefärbten Ring beobachten, welcher etwas lichtbrechender ist als die Hülle. Das ist speziell in reifen, sporulierenden Bakterien am besten sichtbar. Hier ist dann die bekannte Segmentation auch am auffallendsten. Die Bakterien sind unbeweglich.

Karbolfuchsinfärbung. Die Bakterien nehmen die Farbe besonders nach wiederholter Erwärmung derselben ziemlich gleichmäßig

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auf. Sie sind vorwiegend gerade oder kaum merklich gekrümmt. Die kleinsten Formen sind punktförmig und nehmen die Farbe intensiv auf. Die längeren Stäbchen tingieren sich an einem oder an beiden Enden etwas intensiver. Auch hier sind keine Verzweigungen beobachtet worden. In den längeren Stäbchen sind intensiver gefärbte Teilchen sichtbar, wodurch das bekannte Segmentationsbild entsteht.

Elektivmethode. Plasma und Hülle der Bakterien erscheinen venös tingiert, ganz homogen. Aus diesem Tone stechen die scharfkantigen, ovoiden, schwarzen Sporen markant ab. Sie sitzen an beiden oder nur an einem Ende des Bacillus. Sehr oft sind sie auch im zentralen Teile des Bakterienleibes sichtbar, und zwar 1—2—3 an der Zahl. Speziell durch diese Methode tritt die Dicke der Spore unzweifelhaft zutage. In den feinen, geraden, kleinen Stäbchen sind keine Sporen sichtbar. Sehr häufig trifft man dagegen auskeimende Sporen, wo man am Ende des jungen, homogenen Bacillus die noch anhaftende Spore sieht.

B. Tolinmethode. Mit dieser Methode ist das oben geschilderte Bild in allen seinen Einzelheiten auch darstellbar.

$AgNO_3$-Imprägnation. Mit Höllensteinlösung lassen sich die Sporen imprägnieren.

Säurefestigkeit.

20-proz. Schwefelsäurelösung + 1 Proz. Methylenblau: Gleichmäßig gefärbte, arteriöse Stäbchen ohne irgendeine Struktur. Blau gefärbte Bakterien sind nicht sichtbar.

15-proz. Salpetersäurelösung + Nachfärbung mit Löfflers Methylenblau: Gleichmäßig tingierte, rote Stäbchen mit einem leichten Stich ins Violette. Den Sporen entsprechend, ist die Hülle etwas intensiver gefärbt.

Der Bacillus ist ausgesprochen säurefest.

Alkoholfestigkeit.

Die sporenreifen Bakterien bleiben rot tingiert, die jungen Formen geben beinahe total die Farbe ab, ja sogar findet man auch schwach bläulich-grünlich tingierte Bakterien. Schwach alkoholfest.

Alkalifestigkeit.

Nach der Methode von Gasis erwiesen sich die Bakterien als ausgesprochen alkalifest.

Kulturverfahren.

Bouillon. Nach 6—8 Tagen entwickelt sich ein zartes Häutchen, welches aber nach kurzer Zeit zu Boden sinkt. Die Bouillon bleibt permanent klar. Eine Farbenveränderung wird selbst nach Wochen nicht bemerkt. Kultur uncharakteristisch.

Glyzerinbouillon (6 Proz. Glyzerin). Nach einigen Tagen entwickelt sich ein feiner Ueberzug, welcher an Dicke mit dem Alter zunimmt. Von diesem trennen sich feine, wolkenartige Flocken ab, welche zu Boden sinken. Bouillon bleibt klar, nimmt jedoch nach einigen Wochen einen bräunlichen Ton an.

Gelatine. Langsam wachsende, grauweiße Kolonieen, welche zu einem schmierigen Belage zusammenfließen, ohne jedwedes Merkmal. Nährboden wird nicht verflüssigt.

Agar. Die Kolonieen sind grauweiß, schwach glänzend, schmierig. Sie wachsen langsam zusammen zu einem höckerigen Belage. Das

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kondenswasser wird von einer zarten, leicht brüchigen Membran überzogen, welche in Stücke zerfällt und zu Boden sinkt. Die Kultur hat kein typisches Aussehen.

Glyzerinagar. Ungleichmäßig wachsende, grauweiße Kolonieen, welche schon am 3.—4. Tage Wachstum zeigen. Anfangs sind sie glänzend, nach 6—8 Wochen aber werden sie matt und wachsen zu einer 2—3 mm dicken Schicht zusammen. Aeltere Kulturen haben an der Oberfläche oft einen leichten rosaroten oder bräunlichroten Farbenstich. Keine Tendenz zu Faltenbildung. Die Kultur hat einen angenehmen, aromatischen Geruch.

Organkultur. Sowohl auf glyzerinierten, wie glyzerinfreien Organkulturen wachsen die Bakterien sehr üppig. Schon nach 2—3 Tagen bei 20—24° C ist das Wachstum sichtbar, und es entwickeln sich kleine, halbrunde, glänzende, aber schmierige Kolonieen, welche nach einigen Tagen einen konfluierenden, dicken Belag bilden, welcher auf das Kondenswasser und auf der Wand der Eprouvette wächst. Speziell eignet sich zu diesen Kulturen Rindsleber. Man stellt sich diese derart her, daß man Leberstücke zuerst kocht und dann in Prismen zuschneidet. Man trachte, eine möglichst glatte Ebene zu erzielen, auf welche die Keime in Linienform — Strichkultur — übersäet werden. Die Organprismen werden dann mit alkalischer Bouillon, oder auch mit 3—6-proz. Glyzerinwasser begossen und $1^1/_2$ Stunde bei 100° C sterilisiert. Wenn die Leber zuerst gut gekocht wird, tritt bei der Sterilisierung keine Deformation auf. Nach dem Erkalten sind die Röhrchen gebrauchsfertig. Sie eignen sich sehr gut zur Züchtung sämtlicher Säurefesten.

Traubenzucker-Glyzerinbouillon. Wachstum wie bei alkalischer Glyzerinbouillon.

Kartoffelkultur (6-proz. Glyzerin). Schon nach 2—3 Tagen sieht man kleine, halbrunde, grauweiße, glänzende Kolonieen, welche nach einigen Tagen zu einem schmierigen Belage konfluieren. Später wird die Kultur etwas matt und die Oberfläche zeigt massenhafte, halbrunde Protuberanzen.

Karotte (6-proz. Glyzerin). Ebenfalls sehr üppiges Wachstum. Die Kolonieen sind anfangs grauweiß, glänzend. Später konfluieren sie zu einem matten, schmierigen Belage. Kultur nicht charakteristisch.

Milch. Die Milch wird nicht koaguliert.

II. Fischtuberkulosebacillen.

Dunkelfeldbeleuchtung. Doppelt konturierte Bakterien mit abgerundeten Enden und feinkörniges Plasma. Die Sporen sind intra- und extracellulär deutlich sichtbar. Der Bacillus hat keine Geißeln, er ist unbeweglich.

Burrimethode. Mit dieser Methode ist die genaue Form und Größe leicht zu prüfen. Die entwickelten Bakterien sind lang und meistens auch etwas gebogen. Im Bakterienleibe, dessen Enden abgerundet sind, fallen die stark lichtbrechenden, ovoiden Sporen auf. Die jüngeren Formen sind ganz homogen; eine Verzweigung ist nicht beobachtet worden.

Vitalfärbung. Die Sporen färben sich am schnellsten, und man sieht das bekannte segmentierte Bild der Säurefesten. Nach etwa einer Stunde färbt sich auch die Hülle, jedoch blaß. Rings um die schon in diesem Stadium stark tingierten Sporen ist ein schmaler, etwas lichtbrechender Saum zu sehen. Keine Bewegung, keine Geißeln.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Karbolfuchsin. Gleichmäßig tingierte und die typische Segmentation aufweisende, an beiden Enden abgerundete Bakterien. Die Sporen sind deutlich sichtbar, und ihr Sitz und ihre Anzahl weisen bedeutende Variationen auf. In manchem Bacillus ist die Hülle den Sporen entsprechend intensiver gefärbt.

Elektivmethode. Die Bakterien sind blaß rotviolett tingiert, homogen. Die tiefschwarzblau gefärbten, scharfkantigen Sporen von ovoider Form stechen von der blaßroten Farbe des Protoplasma und der Hülle markant ab. Bald sind sie an beiden, bald nur an einem Ende des Bakterienleibes, mitunter auch im zentralen Teile desselben 1—2—3 an der Zahl zu sehen. Es ist merkwürdig, daß die Sporen auch hier voluminöser sind als der Bacillus. Die jungen Entwickelungsformen sind ganz homogen, ohne irgendeine nachweisbare Struktur.

B. Tolinmethode. Diese Methode gibt ein ganz analoges Bild, wie oben.

$AgNO_3$-Imprägnation. Mit Höllensteinlösung lassen sich die Sporen gut darstellen.

Säurefestigkeit.

20-proz. Schwefelsäurelösung + 1-proz. Methylenblau: Gleichmäßig tingierte, arteriöse Stäbchen. In einzelnen Bakterien sieht man intensiver gefärbte Teile, andere dagegen sind ziemlich blaß. Sie behalten jedoch ihren arteriösen Charakter.

15-proz. Salpetersäurelösung + Nachfärbung mit Löfflers Methylenblau: Desgleichen behalten die Bakterien auch bei dieser Reaktion ihren arteriösen Charakter. Die Bacillen sind daher ausgesprochen säurefest.

Alkoholfestigkeit.

Die Bacillen sind weniger alkoholfest als diejenigen des Frosches. Nur einzelne Bakterien bleiben typisch arteriös. Der größte Teil derselben wird ganz entfärbt, ja viele nehmen sogar einen grünlich-bläulichen Ton an.

Alkalifestigkeit.

Nach der Methode von Gasis sind die Bakterien alkalifest.

Kulturverfahren.

Bouillon. Es entwickelt sich eine dünne, zarte Haut, von welcher sich wolkenartige Flocken abtrennen und zu Boden sinken. Bouillon bleibt ungetrübt. Die Bouillon verändert die Farbe nicht. Kultur nicht charakteristisch.

Glyzerinbouillon. Nach 4—6 Tagen wächst eine dünne Haut, welche mit dem Alter an Dicke zunimmt. Die Bakterien wachsen ziemlich üppig, und die Bouillon bekommt nach einigen Wochen einen bräunlichen Ton.

Traubenzucker-Glyzerinbouillon. Die Bakterien wachsen ganz ähnlich wie auf Glyzerinbouillon.

Agar. Langsam wachsende, grauweiße, anfangs glänzende Kolonieen, welche später zu einem matten, schmierigen Belage konfluieren. Die Kultur überzieht das Kondenswasser mit einer dünnen Membran.

Glyzerinagar. Ueppig wachsende, glänzende Kolonieen, welche in kurzer Zeit konfluieren. Der gleichmäßig höckerige Belag ist grauweiß, von schmieriger Konsistenz. Nach 1—2 Monaten sieht man hier und da von der Oberfläche etwas hervorragende, halbrunde Protuberanzen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von rosaroter oder blaßroter Farbe. Keine Neigung zur Faltenbildung. Die Kultur hat einen angenehmen, aromatischen Geruch.

Organkultur. Auf glyzerinierter Rindsleber wachsen die Bakterien sehr üppig. Schon nach einigen Tagen sind die halbrunden, glänzenden Kolonieen sichtbar, welche nach kurzer Zeit zu einem gleichmäßig höckerigen, schmierigen Belage konfluieren.

Gelatine. Die Kolonieen wachsen langsam. Sie sind grauweiß, etwas glänzend, ohne charakteristische Merkmale. Nährboden wird nicht verflüssigt.

Karotte. Auf glyzerinierter Karotte wachsen die Bakterien auch üppig, jedoch ist das Wachstum etwas langsamer als auf Glyzerinagar.

Kartoffel. Die Kartoffelkultur ist eine der üppigsten von sämtlichen Kulturen. Schon nach 2—3 Tagen sind die Kolonieen deutlich sichtbar als kleine, grauweiße, glänzende Pünktchen. Bald konfluieren sie zu einem 2—3 mm dicken, matten, schmierigen Belage, welcher sich über die ganze Oberfläche der Kartoffel verbreitet.

Milch. Die Milch wird nicht koaguliert.

III. Blindschleichentuberkulosebacillen.

Dunkelfeldbeleuchtung. Doppelt konturierte, an beiden Enden abgerundete Bakterien, mit feinkörnigem Plasma. Die Sporen sind stark lichtbrechend, ovoid. Keine Geißeln. Die Bakterien sind unbeweglich.

Burrimethode. Lange, an beiden Enden abgerundete Bakterien, welche mehr oder weniger gekrümmt sind. Die kleinsten Formen sind gerade und ganz homogen. Die größeren Bakterien führen ovoide, lichtbrechende Sporen, 1—2—3 an der Zahl, welche entweder am Ende oder im mittleren Teile des Bakterienleibes sind. Die Bacillen sind größer als die Tuberkelbacillen des Menschen. Keine Verzweigungen.

Vitalfärbung. Das Protoplasma und die Hülle tingiert sich langsam und ungleichmäßig. Die Sporen dagegen färben sich ziemlich rasch, und sind den schon beschriebenen hinsichtlich der Form und Tinktion ganz ähnlich.

Karbolfuchsinfärbung. Man beobachtet segmentiert tingierte, gerade oder gebogene, an beiden Enden abgerundete Bakterien. Einzelne färben sich ganz homogen. Mit dieser Färbung sind sie den Rindertuberkelbacillen ganz ähnlich.

Elektivmethode. Das Protoplasma und die Hülle der Bacillen färbt sich rotviolett, homogen. Die Sporen dagegen schwarzblau, und sind schartkantig, ovoid, mit größerem Durchmesser als derjenige der Bakterien. Ihre Lage und Anzahl weist dieselben Variationen auf, wie die schon oben beschriebenen Stämme.

B. Tolinmethode. Die feinere Struktur der Bakterien läßt sich ebenso, wie bei der Elektivmethode, in ihren Einzelheiten sehr gut darstellen, und man sieht nicht weniger oder mehr als bei der Elektivmethode.

$AgNO_3$-Imprägnation. Mit Höllensteinlösung ist die Spore genau darzustellen.

Säurefestigkeit.

20-proz. Schwefelsäurelösung + 1-proz. Methylenblau: Ungleichmäßig tingierte Stäbchen, welche sich arteriös färben.

15-proz. Salpetersäurelösung + Nachfärbung mit Löfflers Methylenblau: Protoplasma und Hülle arteriös, Segmentation deutlich sichtbar. Die Bakterien sind ausgesprochen säurefest.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Alkoholfestigkeit.

Die Bakterien haben eine reine arteriöse Farbe. Einzelne Sporen nehmen jedoch in Spuren Malachitgrün auf.

Alkalifestigkeit.

Nach der Gasis-Methode sind die Bacillen alkalifest.

Kulturverfahren.

Bouillon. Langsam wachsendes, dünnes Häutchen von keiner typischen Beschaffenheit. Es schweben in der sonst klaren Bouillon wolkenartige, feine Flocken, welche nach einigen Tagen zu Boden sinken. Farbenveränderung der Bouillon tritt nicht ein.

Glyzerinbouillon. Wachstum wie oben, jedoch bedeutend üppiger. Die Bouillon wird nach einigen Wochen bräunlich, bleibt aber ganz klar.

Traubenzucker-Glyzerinbouillon. Dieselbe Entwickelung wie bei Glyzerinbouillon.

Agar. Die Kolonieen wachsen langsam. Anfangs sind sie klein, punktförmig, grauweiß, etwas glänzend. Später konfluieren sie zu einem atypischen, schmierigen Belage. Kondenswasser wird mit einer dünnen Haut überzogen.

Glyzerinagar. Ziemlich schnell heranwachsende, halbrunde, grauweiße, glänzende Kolonieen, welche nach 8—10 Tagen zu einer dicken Haut konfluieren. Später entwickeln sich zahlreiche, glänzende Falten. Wird die Aussaaat auf der Oberfläche verrieben, dann entwickelt sich ein dicker Belag ohne Faltenbildung. Dann gleicht die Kulturoberfläche der Struktur des Leders. In allen Entwickelungsstadien haben die Bakterien dieselbe Farbe. Mehrere Wochen alte Kulturen verbreiten einen angenehmen, an Honig erinnernden Geruch.

Gelatine. Kolonieen wachsen sehr langsam, wie bei Agar; sie haben keine speziellen Merkmale. Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Kultur hat keinen typischen Charakter.

Organkultur (6-proz. Glyzerin). Schon nach 3—4 Tagen kann das Wachstum der Bakterien festgestellt werden. Die Kolonieen sind grauweiß, glänzend. Nach einigen Tagen konfluieren sie, und an der Oberfläche ist der Belag höckerig. Der Pilzrasen wächst zu einem 3—4 mm dicken, schmierigen Belage aus, welcher die ganze Oberfläche des Organs überwuchert. Kultur ist nicht typisch.

Kartoffel. Die Kultur ist der Organkultur in allen Beziehungen gleich. Die Bakterien wachsen jedoch bedeutend üppiger als auf der Leber.

Karotte. Die Bakterien wachsen auf glyzerinierter Karotte gleich wie auf Kartoffel. Jedoch ist das Wachstum etwas langsamer. Sonst ebenso schmierig und schwachglänzend wie oben.

Milch. Die Milch wird nicht koaguliert.

IV. Schildkrötentuberkulosebacillen.

Dunkelfeldbeleuchtung. Doppelt konturierte, abgerundete Bakterien mit feinkörnigem Plasma. Die ovoiden, stark lichtbrechenden Sporen sind sehr deutlich sichtbar. Der Bacillus hat keine Geißeln, er ist unbeweglich.

Burrimethode. Gerade, oder etwas gekrümmte Bakterien mit abgerundeten Enden. Sie sind den Fischtuberkulosebacillen sehr ähnlich, jedoch größer als die Menschentuberkulosebacillen. Die jungen Formen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sind gerade, ganz homogene Stäbchen. Die sporulierenden Bakterien sind dagegen dicker und länger, und man kann in diesen die lichtbrechenden Sporen sehr deutlich wahrnehmen. Verzweigung oder Fadenbildung konnte nicht nachgewiesen werden.

Vitalfärbung. Lange, schlanke, etwas gebogene Bakterien. Die Sporen tingieren sich am schnellsten, die Hülle und das Plasma erst nach Stunden. Die Segmentation ist ausgesprochen. Die Sporen sind, wie auch bei den erwähnten Bakterien, bald am Ende, bald im zentralen Teile des Bakterienleibes. Sie sind mit einem schmalen, ungefärbten Ringe umgeben. Geißel nicht nachweisbar, keine Bewegung.

Karbolfuchsinfärbung. Ungleichmäßig tingierte Bacillen, in welchen die Segmentation deutlich sichtbar ist. Die jungen Formen sind ganz homogen.

Elektivmethode. Der arteriöse Farbenton ist durch eine leichte bläuliche Nuance ins Violette geändert, dabei ganz homogen. Die ovoiden oder rundlichen Sporen sind scharfkantig, schwarzblau gefärbt und stechen von der blassen, violetten Farbe der Hülle markant ab. Ihr Durchmesser ist größer als derjenige der Bakterien. Bald sind sie an beiden, oder an einem Ende des Bacillus sichtbar, oft 1—2—3 auch im zentralen Teile desselben.

B. Tolinmethode. Sie gibt ein ganz analoges Bild, wie die Elektivmethode.

$AgNO_3$-Imprägnation. Mit Höllensteinlösung lassen sich die Sporen gut darstellen.

Säurefestigkeit.

20-proz. Schwefelsäurelösung + 1-proz. Methylenblau: Ungleichmäßig tingierte, arteriöse Bakterien. Keine Spur von einer blauen Färbung.

15-proz. Salpetersäurelösung + Nachfärbung mit Löfflers Methylenblau: Der arteriöse Charakter ganz deutlich. Ausgesprochene Säurefestigkeit.

Alkoholfestigkeit.

Die Bakterien bleiben entschieden arteriös, die jungen Formen entfärben sich bis zu einem gewissen Grade, ihr arteriöser Charakter bleibt jedoch.

Alkalifestigkeit.

Nach der Gasis-Methode erwiesen sich die Bakterien alkalifest.

Kulturverfahren.

Bouillon. An der Oberfläche der Bouillon wächst eine dünne Haut, welche nach einer kurzen Zeit zu Boden sinkt. Die Bouillon bleibt klar, keine Farbenveränderung derselben.

Glyzerinbouillon. Nach einigen Tagen entwickelt sich eine dünne Haut, welche an Dicke in kurzer Zeit zunimmt. Von derselben trennen sich feine, wolkenartige Flocken ab und sinken zu Boden. Die Bouillon bleibt klar, aber nimmt nach Wochen einen bräunlichen Stich an.

Traubenzucker-Glyzerinbouillon. Das Wachstum der Keime ist auf diesem Nährboden der Glyzerinbouillon vollkommen gleich.

Agar. Langsam wachsende, grauweiße, anfangs glänzende, halbrunde Kolonieen, welche später zu einem schmierigen, schmalzartigen Belage konfluieren. Kultur ist nicht charakteristisch.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Glyzerinagar. Ueppiges Wachstum. Die Kolonieen sind grauweiß, glänzend, nehmen an Dicke und Dimension in einigen Tagen rasch zu, und konfluieren zu einem ungleichmäßigen Belage, welcher sehr reichliche, glänzende Falten bildet. Die Kultur hat einen angenehmen, honigartigen Geruch.

Organkultur. Auf glyzerinierter Rindsleber ist das Wachstum sehr üppig. Schon nach 2—3 Tagen sieht man die rundlichen, grauweißen, glänzenden Kolonieen. Sie konfluieren aber bald zu einem, mehrere Millimeter dicken Belage, welcher nach Wochen matt wird und von schmieriger Konsistenz ist.

Gelatine. Das Wachstum ist sehr langsam, ohne jeden Charakter. Der Nährboden wird nicht verflüssigt.

Kartoffel. Bei 20—24° C ist schon am 3. Tage Wachstum festzustellen. Die Kolonieen wachsen in einigen Tagen zu einem grauweißen, glänzenden Belage von schmalzartiger Konsistenz ohne besondere Merkmale.

Karotte. Die Kultur hat große Aehnlichkeit mit der Kartoffelkultur. Das Wachstum der Keime ist hier aber nicht so üppig wie dort.

Milch. Die Milch wird nicht koaguliert.

Wenn wir die Resultate der oben erwähnten Befunde resumieren, kann man feststellen, daß die Tuberkuloseerreger der Kaltblüter von denjenigen der Warmblüter gänzlich verschieden sind. Sie weisen in erster Linie unbestreitbare biologische Unterschiede auf. Es gibt zwar morphologische Unterschiede, jedoch auf Grund derselben ist eine Differenzialdiagnose mit absoluter Sicherheit rein mikroskopisch nicht festzustellen, und speziell nicht in solchen Fällen, wenn eine Möglichkeit zur Reinzüchtung nicht geboten wird. Sie sind säure-, alkohol- und auch alkalifest, gleich den echten Tuberkelbacillen. Die Glyzerinagarkulturen geben auch das bekannte Aroma der Tuberkel-, Perlsucht-, Vogel- und Pferdetuberkulosebacillen. Wie aus den Untersuchungen von Aujeszky hervorgeht, ist sogar die Möglichkeit vorhanden, durch allmähliches Angewöhnen an höhere Temperaturen schließlich sie bei Bluttemperatur zu züchten (Fischtuberkulosebacillen, wo sie schon für kleinere Laboratoriumstiere pathogen werden können). Und trotz all diesen gemeinsamen Eigenschaften mit den echten Tuberkuloseerregern der Warmblüter muß man jeden Stamm dieser Bakterien von denjenigen der Warmblüter als artverschieden im Sinne der Immunitätslehre bezeichnen. Einerseits geben die strukturellen, die toxikologischen und speziell die biologisch-pathologischen Unterschiede dazu die natürliche Basis. Die hier erwähnten Untersuchungen beziehen sich zwar auf teils strukturelle und teils biologische Eigenschaften. Wie wir sehen, gibt es unbestreitbar strukturelle Unterschiede, jedoch müssen wir diese trotzdem zur Trennung voneinander als noch ungenügend betrachten.

Um so auffallender sind dann die biologischen Unterschiede. Wachstumsoptimum der Kaltblütertuberkulosebacillen ist 20—24° C. Sie wachsen aber unter 20° C auch ganz gut, wenn auch langsamer. Und das ist auch natürlich, denn in der freien Natur wachsen sie ja bei viel niedrigerer Temparatur. Im Aalkörper und in dem Organismus der Meeresfische wuchsen sie bei nur 10—12° C, und es entwickelte sich ein tuberkulöser Prozeß mit allen typischen Phasen des Tuberkels bis zur Phthise. Beim Wachstumsoptimum der Warmblütertuberkulosebacillen hört die Vegetation der Kaltblüterkeime gänzlich auf, mit Ausnahme der in vitro

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

speziell gezüchteten Keime. Andererseits bieten die Wachstumsbedingungen der Warmblütertuberkuloseerreger geradezu das negative Bild. Bei so niedriger Temperatur, bei welcher die Kaltblüter noch gut gedeihen, hört die Vegetation der Warmblüter total auf. Das sah man unter anderem bei der Aalinfektionsserie unzweifelhaft. Die Kaltblüterkeime verursachten 100 Proz. typische Tuberkulose, dagegen fiel der Impfversuch mit allen drei Stämmen der Warmblüter total negativ aus. Diese biologischen Ergebnisse, soweit sie sich auf natürliche Verhältnisse beziehen, deuten auch für sich allein auf die unzweifelhafte Artverschiedenheit der erwähnten Bakterienarten hin, wenn wir die anderen kardinalen Unterschiede auch außer acht lassen. Ich habe nachgewiesen. und vor mir andere Forscher auch, daß eine unzweifelhafte Transmutation der Warmblüter- in Kaltblütertuberkulosebacillen und umgekehrt nicht stattfindet, resp. aus ganz natürlichen Gründen nicht beobachtet werden konnte.

Wir sind auf Grund dieser Beobachtungen zu der Annahme berechtigt, daß die bei den Kaltblütern nachweisbaren säure-, alkohol- und alkalifesten Bakterienarten mit den Tuberkuloseerregern der Warmblüter, vom Standpunkte der Artverwandtschaft, **nicht identisch sind.**

Wenn wir nun die beschriebenen Bakterien untereinander vergleichen, dann können wir sehr minimale Unterschiede nachweisen. Wir sehen, daß alle vier Stämme auf denselben Nährböden, bei derselben Temperatur und Alkaleszenz sich beinahe vollkommen gleich entwickeln. Die Glyzerinagarnährböden geben kaum nennenswerte Unterschiede. Der Frosch- und Fischtuberkulosebacillus wächst in gleichmäßigen, dicken Rasen, welche gänzlich konfluieren und viele kleine Protuberanzen sehen lassen. Mitunter ist auch ein kleiner Farbenunterschied nachweisbar. Das scheint jedoch viel eher von der chemischen Zusammensetzung des Nährbodens, als von der Bakterienart abhängig zu sein. Die Blindschleichen- und Schildkrötentuberkulosebacillen bilden auf denselben Nährböden nach 2—3 Monaten reichliche Falten, was bei den zwei ersten nicht beobachtet wurde. Jedoch auch diese Wachstumsform ist nicht konstant und hängt speziell davon ab, wie man das Virus auf dem Nährboden verstreicht.

Kleinere Unterschiede sind auch bei der Dunkelfeldbeleuchtung nachweisbar, was aus den beigelegten Mikrophotogrammen ersichtlich ist. Jedoch können wir diese noch nicht als genügend oder maßgebend betrachten zur Aufstellung der Artverschiedenheit der untersuchten Stämme und eventuell zur Differenzialdiagnose der einzelnen Typen. Die pathologischen, Präzipitations- und opsonischen Verhältnisse werden uns vielleicht eine festere Basis ergeben, auf Grund welcher eine eventuelle Trennung der oben beschriebenen Bakterienarten in verschiedene Arten möglich ist.

Schlußfolgerungen.

Die heute bei den Kaltblütern beschriebenen Tuberkulosebacillen, und zwar die Frosch-, Fisch-, Blindschleichen- und Schildkrötentuberkulosebacillen, können unter sich nicht als artverschiedene, sondern nur als an verschiedene Tiergattungen angepaßte Varietäten einer selbständigen Art betrachtet werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literatur.

Bataillon, Compt. rend. Soc. biol. 1897. p. 446.
Dubard, Revue d. la Tuberculose. 1898.
Terre, Essai sur la tuberc. d. anim. s. fr. [Diss.] Dijon 1902.
Moeller, Ueber d. Tuberk. verw. Mikroorg. (Ther. Monatsh. 1898.)
Friedemann, Spont. Tuberk. b. Schildkröte etc. (Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilst. Bd. 4. 1903. p. 439.)
Rupprecht, Ueber säurefeste Bacillen etc. [Diss.] 1904.
Betegh, v., Adatok az emberi etc. (Allatorv. Lapok. 1907.)
— A gümöbacillus uj fest. mód. (Ebenda. 1907.)
— Neue Differenzialdiagnost. etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. H. 5.)
— Ueber eine Methode etc. (Ebenda. Bd. 49. H. 3.)
— Ueber eine neue Methode etc. (Ebenda. Bd. 52. H. 4.)
— Beiträge z. Tuberk. etc. (Ebenda. Bd. 53. H. 4.)
— Weitere Beitr. etc. (Ebenda. Bd. 54. H. 3.)
Potet, Etudes sur l. bactéries etc. [Diss.] Paris 1902.
Aujeszky, Orvosi Hetilap 1906. No. 8.
Gasis, Ueber eine neue Reaktion etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. H. 1.)

Tafelerklärung.

Tafel I.

1. Froschtuberkulosebacillen, Glyzerinagar, 4 Monate.
2. Fischtuberkulosebacillen, Glyzerinagar, 4 Monate alt.
3. Blindschleichentuberkulosebacillen, dgl.
4. Schildkrötentuberkulosebacillen, dgl.

Tafel II.

5. Froschtuberkulose. Burri-Methode, 2 Monate alt, Glyzerinagar.
6. Fischtuberkulose. Burri-Methode, dgl.
7. Blindschleichentuberkulose. Burri-Methode, dgl.
8. Schildkrötentuberkulose. Burri-Methode, dgl.

Tafel III.

9. Froschtuberkulose. Dunkelfeldbeleuchtung. 2 Monate, Glyzerinagar.
10. Fischtuberkulose. Dgl.
11. Blindschleichentuberkulose. Dgl.
12. Schildkrötentuberkulose. Dgl.

Nachdruck verboten.

Ueber die Aufenthaltsdauer der Choleravibrionen im Darmkanal des Kranken und über die Veränderlichkeit ihrer biologischen Eigenschaften.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des weiblichen med. Instituts (Leiter: Prof. D. Zabolotny) und dem 2. zeitweiligen Stadtlaboratorium (Leiter: Privatdozent S. J. Zlatogoroff).]

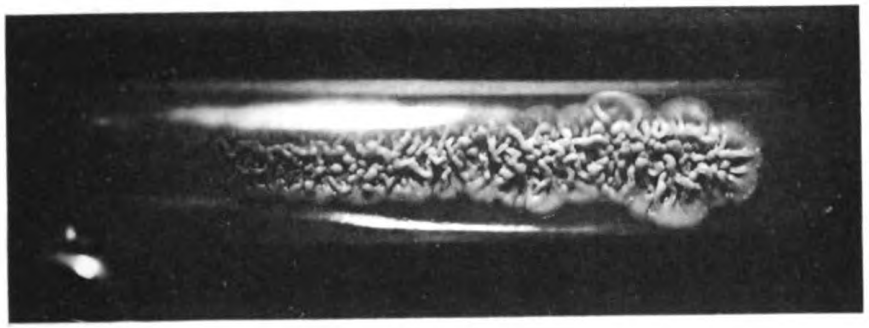
Von Privatdozent **S. J. Zlatogoroff,** St. Petersburg.

Es ist von vielen Forschern bewiesen, daß die Choleravibrionen noch viele Tage und Wochen nach der Genesung in den Exkrementen der Kranken entdeckt werden können.

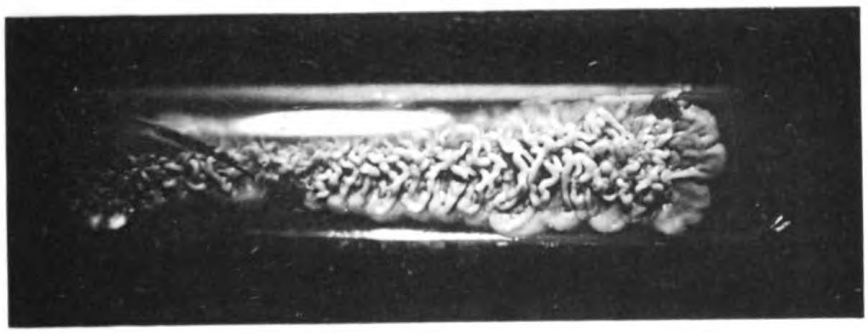
So konnte Kolle (1) 48 Tage nach der Erkrankung Vibrionen aus den Exkrementen erhalten, Jakowleff (2) nach 56 Tagen und Zeidler (3) sogar nach 93 Tagen. Obgleich solche Fälle von langdauerndem Verweilen der Vibrionen im Darme selten sind, weisen sie doch darauf hin,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

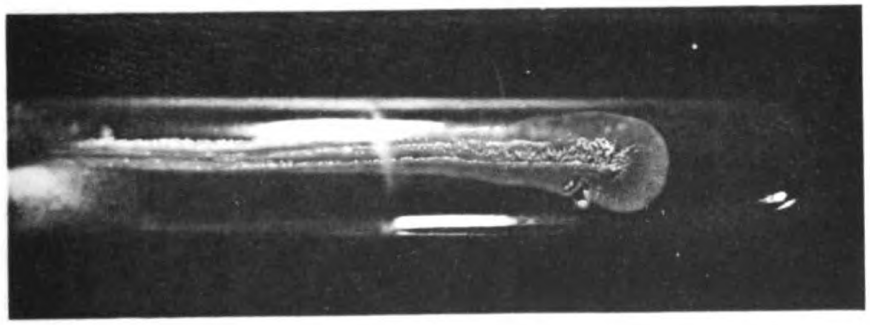
v. Betegh, *Tuberkuloseerreger der Kaltblüter.* Taf. I.



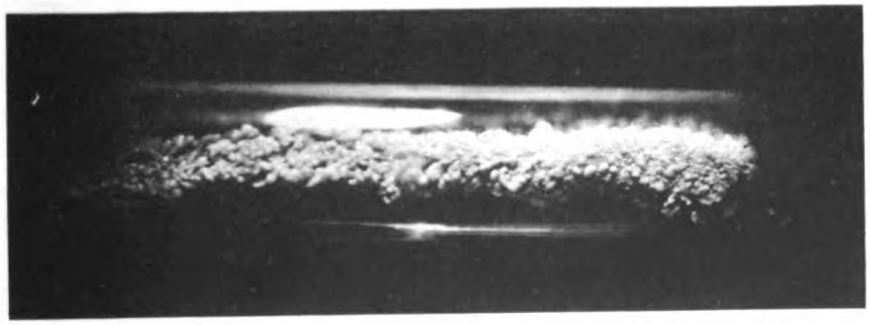
4



3



2



1

v. Betegh phot. J. B. Obernetter, München.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

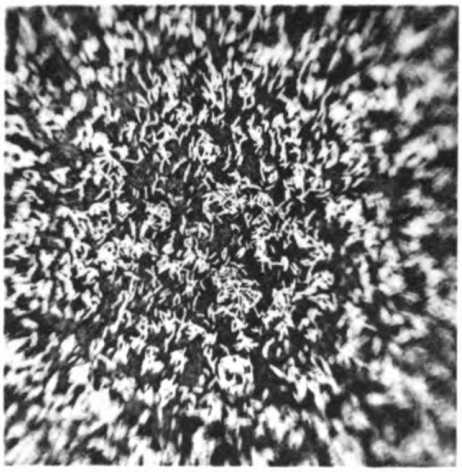
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

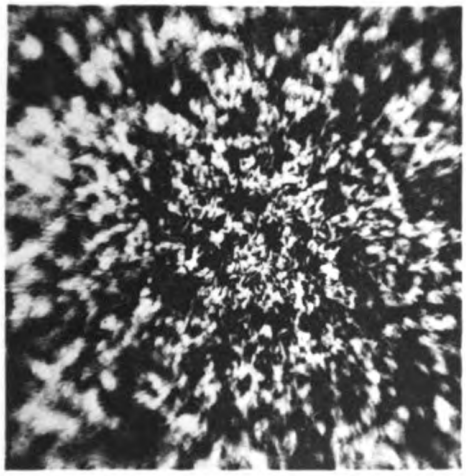
Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

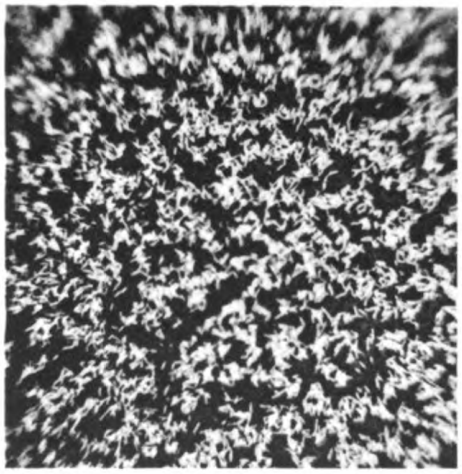
5



6



7



8

v. Betegh phot. J. B. Obernetter, München.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google

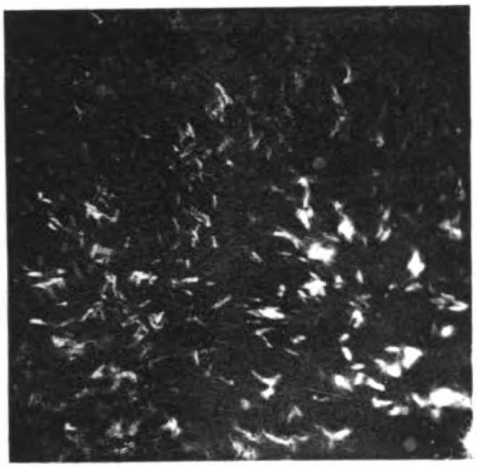
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

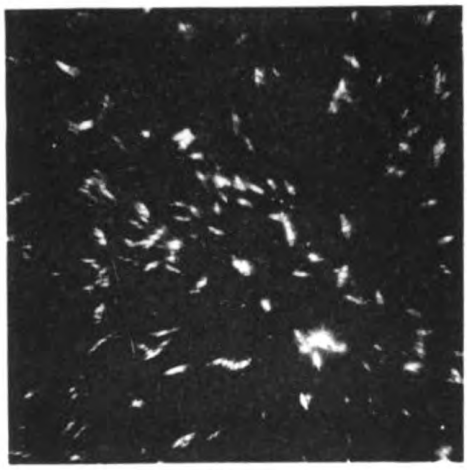
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

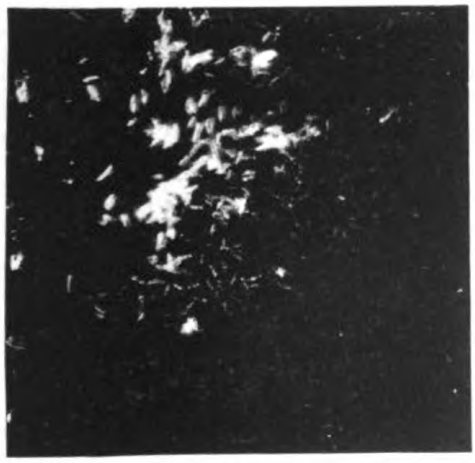
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



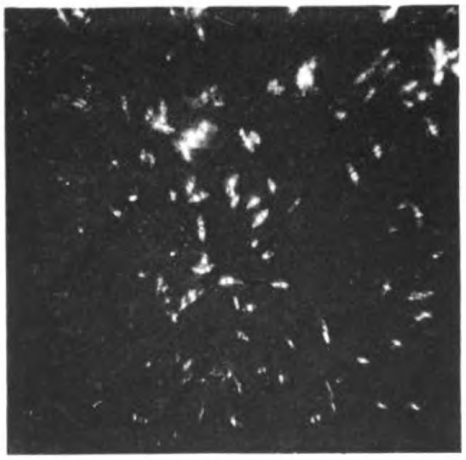
9



10



11



12

v. Betegh phot. J. B. Obernetter, München.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

daß der Mensch noch lange nach der Genesung als Quelle für Choleraansteckung in Betracht kommt, und wie wichtig es ist, systematisch die Exkremente von Patienten nach überstandener Cholera zu untersuchen. Betrachtet man die Tatsache des dauernden Ausscheidens der Vibrionen aus dem Darmkanal als festgestellt, so ist doch die Frage, was für Veränderungen die Vibrionen im Organismus erleiden, noch wenig bearbeitet; ebenfalls die Frage, unter welchen Umständen der Untergang der Vibrionen im Darmkanal vor sich geht. Die Bearbeitung dieser letzteren Frage erscheint nicht weniger wichtig vom praktischen Standpunkte aus zur rechtzeitigen Entdeckung der Vibrionen und zum Kampf mit der Cholera. Etliche Forscher (wie Kolle) bemerken, daß die Virulenz der Vibrionen, welche 33 Tage nach der Erkrankung ausgeschieden wurden, ebenso hoch war wie am Anfang der Erkrankung. Andere beschrieben verschiedene Abarten von Vibrionen, welche aus dem Darmkanal ausgeschieden werden können [Savtschenko (4), Wiltschur (5), Wlajeff (6)], und diese Abarten werden betrachtet (Wlajeff) als „das Produkt der Abweichung der Choleravibrionen von ihren ursprünglichen Eigenschaften infolge dieser oder jener ungünstigen Bedingungen". Ueberhaupt sind wir, was die Biologie und Morphologie der Choleravibrionen anbetrifft, Zeugen ihrer Evolution seit den ersten Tagen der Entdeckung der Vibrionen. Während in den ersten Arbeiten eine Menge verschiedener Arten von Choleravibrionen beschrieben wurde, fielen im Laufe der weiteren Entwickelung der Bakteriologie verschiedene Arten fort, und somit wurde der Grundtypus herausgefunden; hauptsächlich seit der Anwendung der Agglutinationsmethoden und der Pfeifferschen Reaktion. Die letzte Epidemie in Rußland ließ jedoch wieder die bakteriologische Seite in den Vordergrund treten und veranlaßte zur Durchsicht von allem dem, was für anwendbar gehalten wurde.

In den Jahren 1907 (7) und 1908 (8) habe ich angegeben, daß der aus dem Wasser gezüchtete Choleravibrio seine Agglutinationsfähigkeit verliert; doch kann letztere künstlich wiederhergestellt werden.

Es stellte sich heraus, daß der Choleravibrio unter dem Einfluß äußerer Bedingungen (Aufenthalt im Wasser) seine biologischen Grundeigenschaften verändert, eine Tatsache, die von Barrenscheen (9) und Shirnoff (10) bestätigt worden ist. Es war interessant, diese Erscheinung unter den Bedingungen des Aufenthalts der Choleravibrionen im menschlichen und tierischen Organismus zu studieren, da es a priori schwer war, solche Veränderungen bei dem Wasservibrio vorauszusetzen.

Wie die folgenden Auseinandersetzungen zeigen, bestätigten die Untersuchungen unsere ursprüngliche Voraussetzung.

Die vorliegende Arbeit wurde schon im September 1908 begonnen während des ersten Aufflackerns der Choleraepidemie in St. Petersburg. Als Material dienten Exkremente sowohl von Kranken des Maria-Magdalenen- und Peter-Paulshospitals, als auch von Genesenden, welche mit den ersteren in Berührung kamen. Die Untersuchung der Exkremente wurde nach Möglichkeit vom Tage der Aufnahme des Kranken ins Krankenhaus an bis zum völligen Verschwinden der Choleravibrionen aus den Exkrementen gemacht. Bei denen, die das Krankenhaus schon verlassen hatten, wurde das Material zu Hause gesammelt. Im Krankenhause wurde das Material von jedem Patienten mehrmals täglich zur Untersuchung entnommen, zu Hause aber je 2—3 Tage. Die Kultur wurde auf Peptonlösung und Nähragar nach der gewöhnlichen Methode gemacht. Die gewonnene Vibrionenkultur wurde nach morphologischer

Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

und biologischer Seite hin untersucht. Da wir Tag für Tag die Vibrionen, welche aus den Exkrementen ausgeschieden werden, beobachten, bekamen wir eine Vorstellung davon, was im Darmkanal mit der Flora und hauptsächlich mit den Vibrionen bei einem und demselben Menschen vorgeht. Im ganzen wurden 324 Cholerakranke untersucht, von denen 69 im Laufe von 24 Stunden bis zu 10 Tagen starben.

Im allgemeinen wurden von den ersten Tagen der Krankheit bis zum Verschwinden der Vibrionen aus den Exkrementen 255 Menschen beobachtet[1]). Die Untersuchungen wurden dann abgeschlossen, wenn sie (3 Tage nach der Reihe) ein negatives Resultat ergaben.

Tabelle I.

Die Dauer der Ausscheidung der Vibrionen aus den Exkrementen der Kranken.

Zahl der Fälle	14	28	4	29	59	73	26	5	7	2	2	1	2	1	1	1
Aufenthaltsdauer in Tagen	4	8	10	12	14	17	21	22	27	32	33	37	42	48	51	56

Die Dauer des Verbleibens der Vibrionen bei einzelnen Personen und die Zahl der Untersuchten ist aus der Tabelle I ersichtlich.

Die längste Aufenthaltsdauer der Vibrionen betrug bei einem Kranken 56 Tage, bei 132 Personen 14—17 Tage, d. h. bei 51,7 Proz. Auf diese Weise verschwinden die Vibrionen bei der Hälfte der Patienten nach 14—17 Tagen, in einem Zeitabschnitt, der größer ist, als er von den deutschen Autoren angegeben wird. Dabei ist zu bemerken, daß alle Fälle des dauernden Aufenthalts der Vibrionen (vom 37. bis zum 56. Tage) sich auf die Personen beziehen, welche geformten Stuhl hatten. Wodurch kann man sich eine solche verschiedene Aufenthaltsdauer bei verschiedenen Personen erklären?

Hier muß zweifellos mit der Individualität und der angeborenen Unempfänglichkeit gerechnet werden, was sich natürlich einer genauen Kontrolle nicht unterziehen läßt. Aber außerdem muß mit den Verhältnissen (dem Darmkanal), unter denen der Choleravibrio lebt, und mit den Organen, in welchen der Vibrio günstige Bedingungen vorfindet, gerechnet werden. Die Untersuchungen von Kulescha (10), Brüloff (11), Tschiknaveroff (12) ergaben, daß die Choleravibrionen lange Zeit in der Gallenblase und den Gallengängen sich aufhalten können, sogar bei normalem Zustande des Darmes und der Leber, und auf diese Weise kann die Gallenblase als Quelle für die Ansteckung des Darmkanals dienen. In dieser Hinsicht haben wir experimentelle Ergebnisse bei anderen Infektionen, bei welchen die Mikroben gleichfalls am längsten in der Gallenblase nachgewiesen werden konnten. So konnten wir noch im Jahre 1899[2]) bei Kaninchen, welche mit virulenten Typhusbacillen infiziert waren, eine Cholecystitis und eine Ansammlung von Bakterien in der Gallenblase bei Abwesenheit derselben in anderen Organen beobachten. Unsere Versuche, dasselbe mit Choleravibrionen zu erzielen, hatten vollen Erfolg. Dazu nahmen wir Kaninchensäuglinge und infizierten sie per os mit einer für dieses Tier stark virulenten Cholerakultur. Von 13 auf diese Art infizierten Kaninchen blieben 6 am Leben; sie wurden nach 7, 14, 20, 21, 28 Tagen getötet. Bei zweien wurden

1) An dieser Arbeit haben die Zuhörerinnen des weiblichen medizinischen Instituts A. und W. Buroff, N. Sanarewsky, E. Michailoff, N. Krassowsky und L. Dolgoff teilgenommen, denen ich meinen innigsten Dank ausspreche.

2) Siehe die Dissertation: Zur Frage über das Schicksal der Bakterien im Organismus der empfänglichen und unempfänglichen Tiere. St. Petersburg 1900.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

(nach Ablauf von 14—21 Tagen) Choleravibrionen in der Gallenblase und der Leber gefunden, während im Darm keine vorhanden waren (cf. das Protokoll der Experimente am Ende des Artikels. No. 1—4). Außerdem muß man die Flora des Darmkanals in Betracht ziehen.

Metschnikoff (13) hat schon im Jahre 1894 die Voraussetzung ausgesprochen, daß zur Erkrankung an der Cholera der menschliche Darm Mikroben enthalten muß, welche die Infektion begünstigen, und in den Fällen, wo der Mensch an der Cholera nicht erkrankt, muß der Darm Mikroben, welche Antagonisten der Cholera sind, enthalten. Um sich einigermaßen die Rolle der anderswertigen Mikroben beim Verschwinden der Vibrionen aus dem Darmkanal klar zu machen, lenkten wir bei der Untersuchung der Exkremente unsere Aufmerksamkeit auf die Flora überhaupt, und in einigen Fällen konnten wir mit Sicherheit konstatieren, wie der Bac. pyocyaneus in einem Falle, Bact. coli im anderen die Vibrionen allmählich verdrängten, bis letztere vollkommen verschwanden (siehe Protokoll der Beobachtungen. No. 10 und 22).

Außerdem machten wir eine Reihe von Versuchen mit dem Verdrängen der Vibrionen aus den Choleraexkrementen. Unter verschiedenen Bedingungen wurden cholerabacillenhaltige Exkremente (mit großem Bacillengehalt) bei gewöhnlicher Zimmerbeleuchtung in Gefäßen mit Glasstöpseln bei einer Temperatur von 16—18° C stehen gelassen. Ein anderer Teil der Exkremente bei 3—8° C. Darauf wurden in verschiedenen Zeitabschnitten die Gefäße geöffnet und der Inhalt auf Choleravibrionen untersucht. Zugleich wurde chemisch[1]) die Alkalität, die Menge des N, der Chloride, der Phosphate und des Eiweißes bestimmt.

Im ganzen sind 28 Exkremente untersucht worden. Einige Gefäße mit Exkrementen wurden zum ersten Male nach Verlauf von mehreren Monaten, andere wiederholt geöffnet. In den Exkrementen, welche wiederholt untersucht wurden, konnte die Lebensfähigkeit der Vibrionen bis zu 47 Tagen (bei einer Temperatur von 16—18° C) und bis zu 78 Tagen (bei 3—8° C) nachgewiesen werden.

Exkremente, welche in hermetisch verschlossenen Gefäßen gehalten und nur einmal geöffnet wurden, erhielten noch lebensfähige Vibrionen nach Ablauf von 7 Monaten (bei einer Temperatur von 3—8° C) und nach Ablauf von $6^1/_2$ Monaten (bei 16—18° C).

Die langandauernde Lebensfähigkeit der Vibrionen in den Exkrementen wurde in der jetzigen Epidemie im Petersburger Stadtlaboratorium und von Filoff (14) bis zu 101 Tagen und Kulescha (15) nach Ablauf von 9 Monaten nachgewiesen.

Die chemischen Untersuchungen langstehender Exkremente ergaben in verschiedenen Portionen verschiedene Resultate, und unsere Hoffnung, stärkere qualitative Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung vorzufinden, wurde nicht erfüllt. In Tabelle II sind die Resultate der Untersuchungen der Exkremente am 1. Tage und dem Untergang der Vibrionen angeführt (nach Ablauf von 47 und 42 Tagen) (s. Tab. II).

Somit kann das Absterben der Vibrionen in den Exkrementen weder durch Ausnutzung des Nährbodens, noch durch Veränderung der Alkalität erklärt werden. Betrachten wir die Flora des Darmes, so werden wir

1) Die in den Exkrementen stattfindenden chemischen Veränderungen beim Stehenlassen der Exkremente wurden von den Doktoren N. Polubojarinoff und E. Zorochowitsch in dem Laboratorium von Prof. Sirotinin untersucht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

No. der Exkremente	Wieviel Tage lebten die Vibrionen	Quantität des N in 100 ccm		Quantität des Chlors in 100 ccm		Quantität der Phosphorsäure		Eiweiß		Alkalität nach der Schwefelsäure	
		1. Versuch	Letzter Versuch	1. Versuch	Letzter Versuch	1. Versuch	Letzter Versuch	1. Versuch	Letzter Versuch	1. Versuch	Letzter Versuch
1 19. 2. 09	47	0,1015	0,042	0,285	0,32	0,85	0,92	kein	kein	9,0	7,0
2 3. 3. 09	42	0,049	0,084	0,13	0,13	0,8	0,7	+	Spur	7,5	8,5

bemerken, daß nur in ihr der Grund des Untergangs der Choleravibrionen zu suchen ist, und daß der Choleravibrio bei längerem Stehenbleiben sich mehr und mehr morphologisch und biologisch verändert. Währenddessen verändern sich die konkurrierenden Mikroben in dieser Richtung nicht, sie vermehren sich frei und überwuchern die Vibrionen endlich vollständig. Zu diesen Mikroben gehören B. proteus, B. pyocyaneus, einige Arten B. coli und das Milchstäbchen vom Typus Hueppe und vielleicht auch andere Arten.

Gehen wir nun zur Untersuchung der Veränderungen, welche der Choleravibrio unter dem Einfluß des Organismus erleidet, über. Was die morphologische Seite der Frage anbetrifft, so behält der Choleravibrio seine morphologischen Eigenschaften in bezug auf Größe und Grad seiner Krümmung, gleichgültig, ob der Vibrio am 1. Tage der Krankheit oder viele Wochen später gewonnen wurde. So waren Vibrionen, welche 56 Tage gelebt hatten, bis in die kleinsten Details gleichförmig. In einem Falle jedoch wurden vom 20. Tage an (der Fall F. Kusmin), im anderen nach 32 Tagen Vibrionen gezüchtet, welche sich scharf von den gewöhnlichen unterschieden; sie zeigten eine sehr schwache Krümmung, schwache Färbbarkeit und Schwellung. Ihre Größe nimmt bald ab, bald zu, letzteres ist bei der gestreckten spirillenartigen Form der Fall. Das Aussehen der Vibrionen ist so abweichend von der Norm, daß wir nur nach dem typischen Bilde der Agarkolonie erraten können, daß wir es mit dem Choleravibrio zu tun haben. Weitere Aussaaten auf Pepton und Gelatine gaben ihm wieder sein natürliches Aussehen zurück. Ein so morphologisch veränderter Vibrio verändert auch seine Beweglichkeit; letztere ist nicht so ausgeprägt, obgleich die Geißeln erhalten bleiben (eine).

Sehr wahrscheinlich ist es, daß die Anzahl der Vibrionen, welche ihre Morphologie verändern, eine bedeutend größere ist, als wir vermuten, da wir diejenigen, welche keine typische Krümmung besitzen, als nicht Choleravibrionen ausschließen.

In bezug auf die Energie des Wachstums und ihre Eigenschaft, verschiedene Fermente auszuarbeiten, beobachtet man auch bedeutende Abweichungen vom normalen Typus, entsprechend der Dauer des Aufenthalts im Darme. So wird in manchen Fällen schon nach 10 Tagen ein Vibrio gezüchtet, welcher ein sehr schwaches Wachstum auf den Nährböden äußert und rasch abstirbt. Nach 2—3 Tagen findet sich bei demselben Kranken ein typischer Vibrio. Die schwache Lebensfähigkeit der Vibrionen wird manchmal viel früher beobachtet, womit sich der negative Befund in typischen Cholerafällen erklären läßt. Manteufel (21) ist geneigt, in solchen Cholerafällen, die letal endigen, und in denen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keine Vibrionen gefunden werden, den Tod dem Massenabsterben der Vibrionen zuzuschreiben. Ebenso stark verändert sich ihre Fähigkeit, die Gelatine zu verflüssigen und Indol zu produzieren. Der typische Wuchs auf Gelatine wird gewöhnlich bei Vibrionen erhalten, welche am Anfang der Erkrankung gezüchtet worden sind; nach 21 Tagen werden nicht selten Vibrionen angetroffen, welche die Gelatine schwach oder gar nicht verflüssigen (5 Kulturen). Die Indolreaktion erwies sich bei solchen Vibrionen als noch weniger beständig.

Weiterhin wollen wir untersuchen, ob außer den morphologischen und fermentativen Eigenschaften sich nicht auch die biologischen verändern bei den Vibrionen, welche lange im Organismus gelebt haben. Wie werden solche Vibrionen durch spezifische Sera agglutiniert? Zur Agglutination wurde immer ein und dasselbe Serum von demselben Titer genommen. Die Verdünnung wurde von 1 : 500 bis zum Grenztiter gemacht. In der größeren Mehrzahl der Fälle behielten die Vibrionen im Verlaufe der Krankheit und während der Genesung die ursprüngliche (bei der ersten Untersuchung bestimmte) Agglutinationsfähigkeit bei einem bestimmten Titer des Serums, welcher gewöhnlich nicht niedriger als 1 : 5000 zu Anfang der Epidemie und 1 : 1000 zum Ende derselben sank. In einer gewissen Reihe von Fällen (es waren ihrer 39, was 15 Proz. aller Fälle ausmacht) veränderte sich die Agglutinationsfähigkeit der Vibrionen deutlich, indem sie allmählich geringer wurde und schließlich ganz verschwinden konnte (7 Fälle). In Tabelle III sind die Veränderungen der Agglutinationsfähigkeit im Verlaufe der Krankheit angegeben, wobei alle 7 Fälle angeführt sind. In diesen Fällen wurden in gewissen Perioden nur nicht agglutinierende Vibrionen gewonnen; ein Teil der Fälle weist eine schroffe Schwankung der Agglutinationsfähigkeit auf. Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, wie stark sich die Agglutinationsfähigkeit verändern kann; in manchen Fällen wurde sie um 20mal schwächer (Fall No. 13), diese Veränderungen haben nicht in allen Fällen einen progressiven Charakter. Manchmal (Fälle No. 70, 3, 55) beginnt einige Tage nach dem Sinken des Titers ein Ansteigen desselben. Manchmal wurde ein vollkommener Schwund der Agglutinationsfähigkeit zu Ende des Aufenthalts der Vibrionen im Darmkanal (Fälle No. 121, 129, 233), in anderen Fällen bis zur Mitte der Tragzeit der Vibrionen (Fälle No. 37, 22, 55, 145) beobachtet. Vor dem 17. Tage konnten wir keine nichtagglutinierenden Vibrionen feststellen, und der längste Termin war 37 Tage (siehe die Tabelle).

Alle nichtagglutinierenden Vibrionen, die mit je einer Geißel versehen waren, unterschieden sich auch morphologisch in keiner Hinsicht von den eigentlichen Choleravibrionen, außer der Abwesenheit der Agglutination. Haben wir das Recht, diese Vibrionen als echte zu betrachten und als solche, welche von den echten herstammen, die einige Tage vorher von Cholerakranken ausgeschieden wurden? Oder ist es möglich, daß während der Krankheit in den Darmkanal andere, nicht Choleravibrionen geraten sind (z. B. aus dem Wasser), welche in einem bestimmten Zeitabschnitt ausgeschieden wurden, während Choleravibrionen in dieser Zeit nicht ausgeschieden wurden? Auf diese Fragen kann man gegenwärtig eine bestimmte Antwort geben. Alle von den Kranken und Genesenden ausgeschiedenen Choleravibrionen mit einer schwachen Agglutinationsfähigkeit und die nichtagglutinierenden wurden nach einer kurzen Zeit agglutinationsfähig wie die echten Choleravibrionen, und zwar mit Hilfe von schon teils angewandten (8), teils neuen Methoden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

No. der Kranken	Der Agglutinationstiter des Serums nach Zusatz der Vibrionen, ausgeschieden von ein und derselben Person nach der Erkrankung nach Tagen							
	3	10	17	24	31	37	48	51
11	1:15 000	1: 5 000	Der Kranke starb am 26. Oktober 10 Tage nach der Erkrankung					
13	1:10 000	1:10 000	1: 1 000	1: 500	28[1]) 1: 500			
28	1:10 000	1: 5 000	1: 2 000	21[1]) 1:2000				
26	1:10 000	5[1]) 1: 5 000	11[1]) 1:10 000					
34	1:15 000	1:10 000	1: 1 000	20[1]) 1:2000				
10	1: 5 000	1: 2 000	1: 2 000					
41	1: 2 000	1: 2 000	1: 2 000	20[1]) 1: 500				
70	1:10 000	1: 2 000	1: 500	1:5000				
60	1:15 000	1:10 000	1: 5 000	1:1000	1:5000	1:10 000		
116	1:10 000	1:10 000	1: 1 000	1: 500				
3	1: 2 000	1: 1 000	1: 500	1: 500	1:2000			
37[2])	1: 1 000	1: 1 000	0	21[1]) 1:1000	—	—	—	
22[2])	1: 5 000	1: 5 000	1: 1 000	0	1:2000	1: 1 000	1:2000	
55[2])	1:10 000	1:10 000	1: 2 000	1:2000	0	0	1:5000	1:2000
145[2])	1: 5 000	1: 2 000	1: 5 000	0	27[1]) 1: 500			
121[2])	1: 5 000	1: 1 000	12[1]) 0					
129[2])	1:10 000	1: 5 000	1: 5 000	21[1]) 0				
233[2])	1: 1 000	1: 1 000	0					

Außerdem ergaben diese Vibrionen eine positive Komplementbindung. Also waren alle von uns gezüchteten Vibrionen echte Choleravibrionen, da sie sich in nichts von den letzteren unterschieden.

Natürlich muß man die zweite Frage, ob wir es hier nicht mit zufällig in den Darmkanal gelangten Bacillen zu tun haben, negativ beantworten.

Dafür, daß der Choleravibrio seine Agglutinationsfähigkeit unter verschiedenen Lebensbedingungen im Organismus ändern kann, haben wir indirekte Beweise in einer Reihe von Tatsachen, die die letzte Epidemie ergeben hat. Bei der Untersuchung einer ganzen Familie, welche Cholerakrankheitsfälle bot (erkrankt am 21. Febr. 1909), wurden aus den Exkrementen Vibrionen gezüchtet, die bei allen verschieden agglutinierten: 1 : 10000, 1 : 1000 und 1 : 500; von 12 Personen aus derselben Wohnung, die nicht erkrankten, wurden bei 2 Vibrionen gefunden; bei J. P. agglutinierte der Vibrio bei der Serumverdünnung 1 : 500, bei A. P. wurde ein nicht agglutinierender Vibrio gefunden. Im letzteren Falle gelang es, ihn in einen agglutinierenden zu verwandeln. Man kann eine Menge solcher Beispiele anführen.

Es ist wohl schwer, vorauszusetzen, daß alle Vibrionen, welche die Familie infiziert hatten, verschieden waren, natürlicher ist es anzunehmen, daß es ein und derselbe Vibrio war, welcher fähig war, sich im menschlichen Organismus zu verändern.

Aus der Arbeit von Kolle (16) ist ersichtlich, wie weit in dieser Beziehung in der Literatur die entgegengesetzte Meinung herrscht. Dieser Autor nimmt an, daß ein jeder Vibrio, der aus den Exkrementen ausgeschieden wird und nicht agglutiniert, kein Cholerabacillus ist. Kolle sagt, daß in der letzten ägyptischen Epidemie bis 25 Proz. choleraartiger Vibrionen ausgeschieden wurden, welche sich von den echten nur durch ihre Unfähigkeit zur Agglutination unterscheiden, und

1) Die Zahl vor dem Titer zeigt den Zeitraum des Vorhandenseins der Vibrionen und den letzten Tag der Untersuchung an.

2) No. 37 agglutinierte schließlich; dgl. No. 22, 55, 145, 121, 129, 233.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:12 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß früher das Vorfinden der choleraartigen Vibrionen in den Exkrementen als relativ selten angesehen wurde.

Dieser Standpunkt, welcher von den Vibrionen eine beständige biologische Eigenschaft verlangt, und ohne welche die Echtheit der Herkunft und der Charakter der Vibrionen in Abrede gestellt wird, widerspricht unseren heutigen Vorstellungen über die Veränderlichkeit der verschiedenen Merkmale, welche für die gegebene Gruppe der Mikroben charakteristisch sind. In bezug auf den Typhusbacillus, Bac. coli, Streptococcus, B. diphtheriae sind uns solche Tatsachen bekannt; sie setzen uns nicht in Erstaunen. Spricht man dagegen vom Choleravibrio, so stellt man sich letzteren als unveränderlich in seinen biologischen und morphologischen Formen vor. Besonders wird die Agglutinationsfähigkeit dermaßen als beständige Eigenschaft des Choleravibrio angenommen, daß man ihn ohne diese Eigenschaft sich nicht denken kann. Wir haben durch unsere Untersuchungen bewiesen, daß das allgemeine Gesetz der Veränderlichkeit der biologischen Eigenschaften der Mikroben auch von dem Wasservibrio gilt; nun sehen wir, daß auch die aus dem Organismus ausgeschiedenen Vibrionen denselben Veränderungen unterworfen sind.

Es muß noch bewiesen werden, daß der Vibrio des tierischen Organismus sich ebenfalls verändern kann, indem er einige seiner spezifischen Eigenschaften verliert, wie wir es beim Menschen annehmen. Wenn es uns gelingen würde, durch Experimente an Tieren diese Tatsache zu beweisen, so wäre diese Frage entschieden. Zufällig sind wir auf solche Tatsachen gestoßen, welche die Frage im positiven Sinne entscheiden.

Ich bemerkte beim Infizieren einer Serie Meerschweinchen (im September 1909) mit minimaler tödlicher Dosis des Kommabacillus (welcher hochagglutinierend beim Titer 1 : 10000 wirkte) und bei der Untersuchung der zu verschiedenen Zeitabschnitten sterbenden Tiere, daß bei den Meerschweinchen, die nicht vor dem 7. Tage starben, Vibrionen aus den Organen ausgeschieden wurden, welche eine verschiedene Agglutinationsfähigkeit besaßen. Bei einem Meerschweinchen wurde ein Vibrio (aus dem Herzblut) gezüchtet, welcher bei einer Serumverdünnung von 1 : 100 agglutinierte.

Aus früheren Experimenten war es uns bekannt (8), daß es durch Passieren eines nicht agglutinierenden Vibrio durch den Organismus eines Meerschweinchens die Agglutinationsfähigkeit zu erhöhen gelingt, wenn das Tier rasch zugrunde geht. In Fällen aber von langdauerndem Aufenthalt des Vibrio im Körper des Meerschweinchens wird, wie es scheint, das Gegenteil beobachtet. Man sah sich infolgedessen gezwungen, Bedingungen für einen längeren Aufenthalt der Vibrionen im Organismus des Meerschweinchens zu erzeugen.

Injiziert man in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens eine nicht tödliche Dosis von Choleravibrionen, so verschwinden diese rasch aus derselben. Führt man aber gleichzeitig mit der intraperitonealen Injektion subkutan eine abgetötete Cholerakultur in größerer Dosis ein, die eine Temperaturerhöhung hervorruft, so geht das Meerschweinchen nach 7 Tagen zugrunde, und es gelingt, die Anwesenheit der Vibrionen in allen Organen nachzuweisen.

Die besten Resultate werden bei folgender Versuchsanordnung erzielt, d. h. es gelingt am längsten, die Vibrionen im Organismus des Meerschweinchens zu erhalten. In die Bauchhöhle wird eine subletale

Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Dosis von Choleravibrionen eingeführt und subkutan 12 Stunden darauf eine Vaccine[1]) Cholerabacillen, 0,1 auf 100 g Körpergewicht.

(Genaueres über die Experimente siehe in der Beilage.)

Es wurden 5 solcher Experimente gemacht, und alle mit gleichem Resultat, d. h. die Choleravibrionen von guter Agglutination, welche sich 7 Tage oder länger im Organismus des Meerschweinchens aufhielten, verändern in hohem Maße ihre biologischen Eigenschaften; sie zeigen einen schwächeren Wuchs auf Nährböden und agglutinieren schwächer.

So erhält man statt des ursprünglichen Titers 1:10000 1:1000 und 1:500. In zwei Fällen (bei einem Meerschweinchen, welches 9 Tage, beim anderen, welches 14 Tage lebte) wurden aus der Leber nichtagglutinierende Vibrionen gewonnen, welche späterhin agglutinierten (siehe Experimente No. 32 und 33).

Es ist von Interesse, daß die Agglutinationsfähigkeit der Vibrionen sehr ungleich ist, je nach den Organen, aus welchen sie gewonnen werden. Vergleicht man beim Meerschweinchen die Vibrionen, welche aus dem peritonealen Exsudatstamm mit Vibrionen, welche aus Leber, Milz und Herz herstammen, und titriert man bei der Bestimmung der Agglutination genau, so zeigt sich der höchste Titer bei den ersten und der niedrigste bei den aus der Leber gewonnenen Vibrionen, wobei die Differenz eine 10- und 20-fache sein kann im Vergleich zum Titer der ursprünglichen (siehe Experiment No. 35). Selbstverständlich wurden bei den Meerschweinchen vor der Injektion die Exkremente auf Anwesenheit von Vibrionen untersucht. Somit ist der tierische Organismus imstande, in einigen Fällen Bedingungen für die Veränderlichkeit der biologischen Eigenschaften der Choleravibrionen zu schaffen.

Gleich dem tierischen Organismus wirken auf die Vibrionen, wie wir wissen, die äußere Umgebung (Wasser) und auch Exkremente. Werden Choleraexkremente, in denen vor dem Experiment die Vibrionen genau bestimmt und die Agglutination bestimmt war, aufbewahrt, so gelingt es nach Verlauf von mehreren Monaten (in unserem Fall von 5—6½ Monaten), Vibrionen, welche sich morphologisch und biologisch stark verändert haben, nachzuweisen. Sie färben sich schwach, sind schwach gekrümmt mit verdicktem Ende; sie verflüssigen langsam die Gelatine (nur am 8. Tage), wirken nicht hämolysierend auf die Erythrocyten und agglutinieren bei einer Verdünnung von 1:200 und 1:500. Dagegen besaß in denselben frischen Exkrementen der Vibrio eine Agglutinationsfähigkeit von 1:10000. Es gelang bei diesem veränderten Vibrio auf dem Wege der Ueberimpfung auf künstlichen Nährböden seine Morphologie und Agglutinationseigenschaft bis 1:2000 wiederherzustellen.

Es gelang uns nicht nur, bei Rekonvaleszenten, sondern auch bei Gesunden, die mit Kranken in Berührung kamen, solche nichtagglutinierende Vibrionen zu erhalten. Von 2540 Untersuchungen wurden 82mal nicht agglutinierende Vibrionen gewonnen. 55 Vibrionen wurden auf verschiedene Art bearbeitet und es gelang, 45 von ihnen zu typischen Choleravibrionen mit einer hohen Agglutinationsfähigkeit zu verwandeln. Die Methoden, welche wir zur Erhöhung der Agglutinationsfähigkeit angewandt haben, waren folgende:

1) Verstärkte Ueberimpfungen von Agar auf Agar, oder auf geronnenes Blutserum. Manchmal genügen einige Ueberimpfungen, um einen hochagglutinierenden Vibrio zu erhalten. Diese Methode gibt die

1) Diese Tatsachen waren uns nach dem Studium der Wirkung der Vaccine auf den tierischen Organismus bekannt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

besten Resultate mit denjenigen Vibrionen, welche von Anfang an auch schwach agglutinierten. So werden Vibrionen, welche bei 1:500 agglutinierten, bei dieser Methode einen 4—5mal höheren Titer erhalten. Am besten überimpft man täglich. In vielen Fällen kann man eine spontane Agglutinationsverstärkung bei einfachem Stehenlassen (ohne Ueberimpfung) beobachten; manchmal sogar kann man dieses nach vielfachen, vergeblichen Versuchen nach anderen Methoden erreichen.

2) Das Passieren durch den Körper der Meerschweinchen. Mit virulenten Kulturen muß man die Bauchhöhle mit einer solchen Dosis infizieren, welche nicht mehr als 48 Stunden tödlich wirkt. Die Vibrionen erhalten die höchste Agglutinationsfähigkeit im Exsudat der Bauchhöhle, aus dem sie vornehmlich gewonnen werden.

Sind die Kulturen schwach virulent. so ist es notwendig, gleichzeitig mit den Vibrionen (Agarkultur) in die Bauchhöhle das Toxin, Bac. coli oder prodigiosus oder eine lebende Streptokokkenkultur einzuführen. Das Körpergewicht des Meerschweinchens darf 200 g nicht übersteigen. Bei unseren Experimenten verfahren wir folgendermaßen: Die 24-stündige Kultur auf Agar wird mit 1 ccm der 3-tägigen abgetöteten Bouillonkultur des Bac. coli abgespült und die ganze Emulsion in die Bauchhöhle eingespritzt.

Durch die zweite Methode, d. h. durch das Passieren durch Meerschweinchen, gelingt es manchmal, die auffallend schwache Agglutinationsfähigkeit wiederherzustellen. Manchmal ist man gezwungen, die Vibrionen durch mehrere Meerschweinchen passieren zu lassen, bis ein Resultat erzielt wird. In zwei Fällen von menschlichen Vibrionen (siehe Tabelle III, Fälle 22 und 55) und Vibrionen, die von Meerschweinchen (No. 5 und 11) gewonnen wurden (Experiment 32 und 33), war einmaliges Passieren durch Meerschweinchen genügend, um bei einem nicht agglutinierenden Vibrio die Agglutination von 1:1000 zu erhalten.

Nicht selten ist man aber gezwungen, diese Methode mit der ersteren zu kombinieren, und so entsteht eine dritte Methode.

3) Ohne den Tod des injizierten Meerschweinchens abzuwarten, wird das Exsudat aus der Bauchhöhle gewonnen, auf schrägem Agar kultiviert und mehrfach auf demselben oder auf Serum übergeimpft; darauf wird wieder ein Meerschweinchen injiziert, und häufig gibt eine solche kombinierte Methode bessere Resultate (Fall No. 37, Tabelle III).

4) Das Verhalten des zu untersuchenden Vibrio in agglutinierendem Serum.

Nach Ransom und Kitashima (17) verliert der Choleravibrio seine Agglutinationsfähigkeit, wenn er auf Bouillon mit agglutinierendem Choleraserum gezüchtet wurde. Diese Beobachtungen sind von uns wiederholt bestätigt worden (siehe No. 8). Wenn aber starke Lösungen hochagglutinierenden Serums in physiologischer Kochsalzlösung (1:100) genommen werden und die in dieselben eingeführten Vibrionen einige Tage darin gehalten werden, so kann man bemerken, daß die aus diesem Gemisch gewonnenen Vibrionen nicht nur ihre Agglutinationsfähigkeit einbüßen, sondern auch für die Einwirkung der Serumagglutinine noch zugänglicher werden. Sobald die aus diesem Serum ausgeschiedenen Vibrionen wieder in eine 1-proz. Serumlösung von hohem Titer eingeführt werden, werden die Vibrionen nach zweimaligem Aufenthalt im Serum noch leichter agglutinierbar[1]). Dabei haben wir die Beobachtung

1) Es ist möglich, daß es sich hier um eine Spontanagglutination der Vibrionen, worauf Nicolle und Hamburger (18) hingewiesen haben, handelt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gemacht, daß nicht alle Sera gleich gut auf die Vibrionen wirken. Am besten wirken dünnflüssige, frische (vor kurzem von Tieren gewonnene) Sera und besonders solche, die an und für sich in Konzentrationen von 1:50 oder 1:100 Konglutinationserscheinungen von Mikroben hervorrufen. Wie bekannt, verursacht normales Pferdeserum in manchen Fällen eine Agglutination der Mikroben in Lösungen von 1:50 und 1:100; es wird eine spezifische Erscheinung der Konglutination erhalten. Zum Verstärken der Agglutinationsfähigkeit des Serums erwies es sich nützlich, die zu untersuchenden Vibrionen in ein Gemisch von spezifischem Serum mit einem normalen Pferdeserum zu bringen, wobei eine 1-proz. Lösung des spezifischen Serums erhalten wird.

Es bleibt unklar, weshalb dieses Gemisch besser wirkt als ein reines spezifisches Serum. Vielleicht wirkt das frische Pferdeserum, welches das Komplement enthält, stärker auf den Rezeptorenapparat der Vibrionen, sie scheinbar für die Einwirkung der Agglutinine vorbereitend. Oder verändern sich die physikalischen Bedingungen des Mediums, in welchem die gegenseitige Einwirkung der kolloidalen Substanzen stattfindet?

Jedenfalls gelang es uns in manchen Fällen, auf diese Weise nicht agglutinierende Vibrionen in agglutinierende zu verwandeln. Schließlich muß ich noch eine 5. Methode, welche mir einige Male gute Resultate ergeben hat, wo andere Methoden fehlschlugen, erwähnen:

Es ist die Methode des wiederholten Gefrierens und Auftauens. Asakawa (18) schlug vor, zur Beschleunigung der Agglutination ein Gemisch von Bakterien und Serum zum Gefrieren zu bringen und dann auftauen zu lassen. Wir benutzten die Idee dieses Autors, und wandten diese Methode bei den nicht agglutinierenden Vibrionen an, um sie in agglutinierende zu verwandeln. Wir ließen eine Emulsion von Vibrionen und spezifischem Serum (1:100) nach dem Gefrieren rasch bei einer Temperatur von 52—55° (nach Weil) auftauen. In einem Falle genügte eine einmalige derartige Manipulation, um eine deutliche Agglutination 1:100 zu erhalten. Dabei verfuhren wir folgendermaßen: Das spezifisch agglutinierende Serum wurde mit normalem Pferdeserum verdünnt. 1 ccm dieses Gemisches wurde in ein kleines Reagensglas gegossen, darauf wurden einige Oesen von 1-tägiger Agarkultur des zu untersuchenden Vibrio eingeführt und in Eis mit Salz gestellt; das Gefrieren fand in einigen Minuten statt, darauf wurde das Reagensglas in ein Wasserbad bei einer Temperatur von 52° C auf 15 Minuten und dann in den Thermostat bei 37° auf 12 Stunden gebracht. Erhielt man die Agglutination, so wurde der Vibrio auf Agar gezüchtet und seine Agglutinationsfähigkeit nach der üblichen Methode titriert. Wurden keine Erscheinungen der Agglutination beobachtet, so stellte man das Reagensglas wiederholt auf Eis und in warmes Wasser und wieder in den Thermostaten [1]).

Alle 5 genannten Methoden wurden von uns sowohl zur Verstärkung der Agglutinationsfähigkeit, als auch zur Wiederherstellung, im Falle des Verlustes derselben, angewandt.

Haben diese Methoden einen absoluten Wert? Unsere Experimente, welche mit 65 nicht agglutinierenden Vibrionen gemacht worden sind, zeigten, daß keine der Methoden absolut sicher ist, und daß alle ver-

1) Es muß noch auf den Einfluß, welchen Sarcinen auf Vibrionen ausüben, hingewiesen werden (zuerst von Gorowitz-Wlassoff [22] beobachtet). Durch Symbiose der Sarcine mit den Vibrionen gelingt es, auch die biologischen Eigenschaften der letzteren zu ändern.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

No. der Vibrionen	Von wo ausgeschieden?	Auf welche Art den nicht agglutinierenden Vibrionen ihre Agglutinationsfähigkeit zurückerstattet wird				
		durch mehrmalige Ueberimpfungen	durch Passieren durch Meerschweinchen	durch Ueberimpfungen und Passieren durch Meerschweinchen	durch Erhalten in agglutinierendem + normalem Serum	durch Gefrieren und Auftauen
37	bei Kranken	.	.	+ [1])	.	.
22	„ „	.	+	.	.	.
55 [2])	„ „	.	+	.	.	.
55 [3])	„ „	.	+	.	.	.
145	„ „	+	.	.	.	.
121	„ „	.	.	.	+	.
129	„ „	.	.	.	+	.
233	„ „	.	.	.	.	+
5	bei Meerschweinchen Exp. 32 u. 33	.	+	.	.	.
11	bei Meerschweinchen Exp. 32 u. 33	.	+	.	.	.
4595	beim Träger	+	.	.	.	.
4692	„ „	+	.	.	.	.
4587	„ „	— [4])	—	—	—	—
4508	„ „	.	.	+	.	.
4975	„ „	—	—	—	—	—
2576	„ „	+	.	.	.	.
2529	„ „	+	.	.	.	.
4954	„ „	.	.	.	.	+
4594	„ „	.	+	.	.	.
3451	„ „	.	.	+	.	.
4553	„ „	.	.	.	+	.
2650	„ „	.	.	+	.	.
1170	„ „	—	—	—	—	—
1175	„ „	+	.	.	+	.
1181	„ „	+	.	.	.	+
1192	„ „	—	—	—	—	—
1214	„ „	—	—	—	—	—
1222	„ „	+	.	.	.	.
1227	„ „	.	.	.	.	+
1235	„ „	.	.	.	.	+
1266	„ „	+	.	.	.	.
1278	„ „	+	.	.	.	.
1282	„ „	.	+	.	.	.
2522	„ „	+	.	.	.	.
2529	„ „	—	—	—	—	—
2533	„ „	.	.	+	.	.
2570	„ „	—	—	—	—	—
2576	„ „	.	.	+	.	.
2673	„ „	.	.	+	.	.
2650	„ „	+	.	.	.	.
2725	„ „	.	+	.	.	.
2727	„ „	+	.	.	.	.
2980	„ „	.	.	+	.	+
314	„ „	.	.	.	.	+
3022	„ „	.	+	.	.	.
3183	„ „	.	.	.	+	.
3135	„ „	+	.	.	.	.

1) + positives Resultat.
2) Der Vibrio nach 31 Tagen ausgeschieden.
3) Bei demselben Kranken 37 Tage nach der Erkrankung.
4) — negatives Resultat.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No. der Vibrionen	Von wo ausgeschieden?	Auf welche Art den nicht agglutinierenden Vibrionen ihre Agglutinationsfähigkeit zurückerstattet wird				
		durch mehrmalige Ueberimpfungen	durch Passieren durch Meerschweinchen	durch Ueberimpfungen und Passieren durch Meerschweinchen	durch Erhalten in agglutinierenden + normalen Serum	durch Gefrieren und Auftauen
3150	beim Träger	—	—	—	—	—
3320	„ „	.	.	.	.	+
3322	„ „	—	—	—	—	—
3432	„ „	+	.	.	.	.
3451	„ „	+	.	.	.	.
3571	„ „	.	+	.	.	.
3574	„ „	—	—	—	—	—
3575	„ „	.	.	+	.	.
3594	„ „	.	.	+	.	.
3654	„ „	.	+	.	.	.
3736	„ „	+	.	.	.	.
4274	„ „	.	.	+	.	.
4277	„ „	.	.	.	+	.
4355	„ „	+	.	.	.	+
4456	„ „	.	+	.	.	.
4494	„ „	.	+	.	.	.
4502	„ „	+	.	.	.	.
4544	„ „	+	.	.	+	.
im ganzen		20mal	13mal	11mal	8mal	8mal

sucht werden müssen. Auf der Tabelle IV sind die Resultate der Versuche, die nicht agglutinierenden Vibrionen in agglutinierende zu verwandeln, angegeben. Wir haben es hier mit 3 Gruppen zu tun, 8 Vibrionen, welche nach und nach von den Rekonvaleszenten entnommen wurden, 2 Vibrionen, die von intraperitoneal infizierten Meerschweinchen erhalten wurden, und 55 Vibrionen, die von gesunden Menschen, welche mit Cholerakranken in Berührung kamen, stammen.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, ergaben das beste Resultat die erste und zweite Vibrionengruppe, bei Anwendung der 2. Methode, nämlich durch Passieren durch Tiere gelang es, von 10 Vibrionen 6 in agglutinierende zu verwandeln. Wiederholte Kulturen ergaben in dieser Gruppe scheinbar schlechtere Resultate.

Dafür gelang es, in der dritten Gruppe der Vibrionen, die von den Trägern ausgeschieden wurden, am häufigsten, gute Resultate durch Anwendung wiederholter Ueberimpfungen zu erzielen. Besonders gute Resultate ergab diese Methode, wenn auch nur schwach, bei agglutinierenden Vibrionen. Im allgemeinen gelang es, von 65 nicht agglutinierenden Vibrionen 55 in agglutinierende zu verwandeln; durch die Methode der wiederholten Ueberimpfungen 20, durch Passieren durch Meerschweinchen 13, durch wiederholte Ueberimpfungen in der Kombination vom Passieren durch Meerschweinchen 10, bei Einwirkung des Gemisches des Agglutinationsserums mit normalen 8, und vermittelst der Methode des Gefrierens und Auftauens 8.

Aus derselben Tabelle ersieht man, daß es auch solche Vibrionen (von Trägern ausgeschieden) gab, welche trotz aller unserer Bemühungen unverändert geblieben sind. Von 55 blieben 10 nicht agglutinierend. Wir sind weit davon entfernt, die letzten 10 Vibrionen nur deshalb als Choleravibrionen zu betrachten, weil sie in Exkrementen von Personen gefunden worden sind, welche mit Cholerakranken in Berührung kamen,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aber andererseits sehen wir uns nicht berechtigt, sie nur deshalb als choleraähnliche anzusehen, weil sie keine Agglutination ergeben. Unsere Methoden, den Vibrionen die Agglutinationsfähigkeit wiederzugeben, sind noch sehr unvollkommen; andererseits verliert nicht ein jeder echter Choleravibrio leicht seine Agglutinationsfähigkeit. Außerdem ist anzunehmen, daß manche Choleravibrionen, die ihrer Agglutinationsfähigkeit einmal verlustig gegangen sind, nicht imstande sind, ihre früheren biologischen Eigenschaften wiederzuerhalten.

Wenden wir uns zur Literatur über die uns interessierende Frage, so finden wir, daß eine solche Veränderlichkeit der Agglutinationsfähigkeit des Choleravibrio zum ersten Male, dagegen für andere Mikroben von vielen Autoren festgestellt worden ist.

Die Arbeiten von Malvoz, Nicolle, Trenel und Kirstein haben gezeigt, daß es gelingt, Bac. typhi und Bac. prodigiosus (Kirstein) in nicht agglutinierende Formen zu verwandeln. Cassini, Glässner, Grassberger und Schattenfroh, Shibayama, Dreyer, Porges haben den Einfluß der Temperatur und des Nährbodens auf die Veränderlichkeit der Mikroben nachgewiesen.

Wenn wir dennoch auf sich widersprechende Angaben stoßen, so erklären sich letztere durch die Verschiedenheit der Art der Mikroben, welche auf verschiedene Einflüsse ungleich reagieren. Besonders angebracht ist diese Annahme beim Choleravibrio, welcher viele Arten aufweist, die sich voneinander durch ihre biologischen Eigenschaften unterscheiden. So haben Haendel und Woithe (19) bei der Untersuchung verschiedener Vibrionen und beim Kultivieren derselben im Wasser keine Abschwächung der Agglutinationsfähigkeit der zu untersuchenden Vibrionen gefunden, worauf diese Autoren besonderes Gewicht legen; das weist darauf hin, daß ihre Art sich nicht verändert hat. Dasselbe gilt für Köhlischs (23) Vibrionen, deren Agglutinationsfähigkeit abzuschwächen dem Autor nicht gelungen ist.

Köhlisch hat sich in seiner Arbeit vorgenommen, unsere Angaben über die Veränderungen der Agglutinationsfähigkeit der Vibrionen unter dem Einflusse des Wassers zu kontrollieren; dabei kritisiert er sowohl unsere Methoden, die wir bei der Diagnose des Choleravibrio angewandt haben, als auch unsere Schlüsse. Der Autor hat auch den Versuch gemacht, unsere Angaben über die Verstärkung der Agglutinationsfähigkeit der nicht agglutinierenden Vibrionen zu kontrollieren. Der Autor hatte es mit einer so geringen Anzahl von nicht agglutinierenden Vibrionen zu tun (nur 9 hat er vielfachen Ueberimpfungen unterworfen), daß man daraus keine richtigen Schlüsse ziehen kann, und es wäre sonderbar, vorauszusetzen, daß alle aus dem Wasser gewonnenen, nicht agglutinierenden Vibrionen sich in agglutinierende verwandeln können, d. h. als Choleravibrionen zu betrachten wären. Wie oft sich nichtagglutinierende Vibrionen in agglutinierende verwandeln, ist in unserer Arbeit angegeben (siehe Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909. p. 684).

Weiterhin hat der Autor unsere Experimente wiederholt, aber dabei nicht alle von uns angewiesenen Bedingungen erfüllt (er nahm nur $^1/_2$ l statt 5 l, mit denen in unseren Experimenten manipuliert wurde). Unsere weiteren Versuche haben uns gezeigt, daß, je mehr Wasser genommen wird, desto leichter die Veränderungen der Choleravibrionen werden. Die Experimente, welche von Köhlisch gemacht wurden, bestätigen nur, daß die von ihm benutzten Vibrionen ihre Eigenschaften unter dem Einfluß des Wassers nicht veränderten (wie sich vorsichtig Haendel

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Woithe ausgedrückt hatten) und widerlegen nicht die von mir gemachte Schlußfolgerung, daß „der Choleravibrio, der sich im Wasser aufhält, seine Agglutinationsfähigkeit verlieren kann“ (siehe diese Zeitschrift. Abt. I. Orig. Bd. 48. p. 695). Daselbst beschrieb ich: „Natürlich wird ein derartiger Einfluß des Wassers nicht in allen Fällen wahrgenommen und die biologischen Eigenschaften des Vibrio stehen einerseits mit den physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Flora des Wassers, andererseits mit der Stabilität des Vibrio selbst in Zusammenhang.“ Die Meinung des Autors, daß wir nur kurze Zeit die Agglutination beobachtet und Wasservibrionen als echte Choleravibrionen betrachtet haben, ist nicht begründet, denn alles das ist bei der Arbeit vorausgesehen worden. Noch merkbarer verändert sich bei den Vibrionen die Fähigkeit, Hämotoxin zu bilden. Gewöhnlich lösten unsere frischgewonnenen Vibrionen leicht und rasch Schaferythrocyten. Sobald aber eine solche Kultur eine Zeitlang im Laboratorium gestanden hatte, wurde ihre hämolysierende Wirkung schwächer, um schließlich ganz zu verschwinden. Bald hämolysiert ein während des Verlaufes der Krankheit gewonnener Vibrio, bald nicht. Häufig beobachtet man die Abwesenheit der Hämolyse bei den Vibrionen, welche Gelatine schwach oder gar nicht verflüssigten.

Es bleibt uns noch eine Frage zu untersuchen, und zwar inwiefern die Veränderung der Virulenz der Mikroben mit ihrem Verbleiben im Darmkanal zusammenhängt.

Zu diesem Zweck wurde die minimal tödliche Dosis der gewonnenen Vibrionen für Meerschweinchen bestimmt. Besonders wurde die Virulenz berücksichtigt. Beim Vergleich der Virulenz der Vibrionen im Falle 55 (Tabelle III) am Anfang der Erkrankung bei der Agglutination 1:10000 am 31. Tage, bei Abwesenheit der Agglutination und am 51. Tage bei der Agglutination 1:2000 konnten gleiche Resultate erhalten werden: $^1/_{30}$—$^1/_{40}$ 24-stündiger Agarkultur tötet ein Meerschweinchen von 250 g Gewicht in 24—36 Stunden. Diese Beobachtung entspricht den schon früher angeführten Angaben Kolles, welcher am 33. Tage Vibrionen von derselben Virulenz gewonnen hatte, wie in den ersten Tagen der Erkrankung. Gewöhnlich veränderte sich die Virulenz unserer Mikroben, die überhaupt nicht hoch war während des Tragens derselben wenig und entsprach nicht der Agglutination. In 3 Fällen (No. 10, 60 und 166) fiel die Virulenz der Vibrionen gegen Ende der Untersuchungen (am 17., 24. und 37. Tage) sehr stark bis aufs 2- und 3-fache (siehe Protokoll).

Somit sehen wir, daß die Choleravibrionen zu den Mikroorganismen gehören, welche ihre biologischen und morphologischen Eigenschaften verändern können. Diese Veränderungen finden nicht nur außerhalb, sondern auch innerhalb des menschlichen Organismus statt. In letzterem kann sich der Choleravibrio je nach der Dauer seines Verweilens morphologisch ändern, indem er die Form eines Stäbchens gewinnt, und biologisch, indem er seine fermentativen Eigenschaften verliert, Gelatine verflüssigt, Indol und Hämotoxin bildet und Agglutinationsfähigkeit besitzt. Diese Veränderungen kann man experimentell bei Tieren hervorrufen, indem man letztere mit Choleravibrionen infiziert. Denselben Veränderungen unterliegen Vibrionen, welche längere Zeit in Exkrementen gestanden haben. Die Tatsache, daß solche, von ihrem Grundtypus abgewichene Vibrionen zu diesem zurückgebracht werden können, erfordert die größte Vorsicht beim Auffinden von nichtagglutinierenden Vibrionen beim Menschen. Das, was wir über die aus dem Wasser gewonnenen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vibrionen behauptet haben, gilt auch für den menschlichen Vibrio: Ein jeder Vibrio, welcher beim Menschen während der Epidemie oder in Erwartung derselben gewonnen wird, ist auch wenn er nicht agglutiniert, als verdächtig anzusehen; man muß nicht vergessen, daß der Choleravibrio nicht selten seine Agglutinationsfähigkeit einbüßt. Um einen solchen verdächtigen Vibrio auf seinen Grundtypus zurückzuführen (bezüglich seiner Agglutination), müssen alle uns zu Gebote stehenden Methoden versucht werden, da keine dieser Methoden eine absolut sichere ist. Wenn wir die Veränderlichkeit der Choleravibrionen anerkennen, werden wir bestimmt bei der bakteriologischen Diagnose der Cholera vorsichtiger sein und häufiger Vibrionen für Kommabacillen ansehen, die man früher mangels der Agglutination nicht als solche angesehen hat.

Die Protokolle der Experimente.

Infektion von Kaninchen durch den Darm.

Experiment No. 1. 22. Aug. 1909. Kaninchensäugling. No. 1, Gewicht 105 g, erhielt mittels Sonde eine 24-stündige Agarcholerakultur in den Darm. Tod nach 35 Stunden unter Durchfallserscheinungen und Abfallen der Temperatur. Im Verlauf des ganzen Darmkanals starke Hyperämie; Choleravibrionen nachgewiesen.

Kaninchen No. 2, von demselben Wurf, Gewicht 96 g, erhielt dieselbe Menge Cholerakultur (per Sonde) am 22. Aug. 10 Uhr morgens; 23. Aug. Zustand des Kaninchens matt, einigemal flüssiger Stuhl, in welchem einige Choleravibrionen gefunden wurden. 24. Aug. hat das Kaninchen ein munteres Aussehen; in den noch flüssigen Exkrementen sind Vibrionen; 25. Aug. das Kaninchen läuft herum, hat ein gesundes Aussehen; in den Exkrementen keine Vibrionen. 26. Aug. und im weiteren Verlauf Kaninchen gesund. 4. Sept. Gewicht des Kaninchens No. 2 115 g. Das Kaninchen wird nach 14 Tagen durch Chloroform getötet. In den inneren Organen keine makroskopischen Veränderungen.

Kulturen wurden aus verschiedenen Darmabschnitten angefertigt, weiterhin aus der Leber, der Milz, dem Knochenmark, der Gallenblase und dem Herzblut.

Aus der Leber und der Gallenblase wurden Vibrionen gewonnen, aus dem übrigen Material nicht. Der Vibrio unterscheidet sich morphologisch nicht von dem gewöhnlichen, verflüssigt Gelatine erst am 5. Tage, gibt eine schwache Indolreaktion, agglutiniert mit spezifischem Serum 1 : 1000. Der zur Infektion benutzte Vibrio agglutinierte vor dem Versuch 1 : 10 000.

Experiment No. 2. 3. Sept. 1909. Es werden 3 Kaninchensäuglinge von einem Wurf genommen. Kaninchen No. 3, Gewicht 72 g, erhält in den Magen $^1/_2$ 24-stündiger Agarcholerakultur.

Kaninchen No. 4, Gewicht 100 g und No. 5, Gewicht 100 g, zu $^3/_4$ des Reagensglases derselben Kultur. Das Kaninchen No. 3 ist am 4. Sept. abends gestorben, No. 4 5. Sept. morgens. Bei beiden Kaninchen ausgesprochene Hyperämie des Darmes, flüssiges Blut. Vibrionen wurden in No. 3 und No. 4 aus dem Darm gewonnen.

Kaninchen No. 5 am 4. Sept. morgens ist matt, wenig beweglich, saugt nicht, häufige flüssige Stühle mit einer Menge von Vibrionen. 5. Sept. ist das Kaninchen munterer, eine Menge Vibrionen in den Exkrementen. 6. Sept. Kaninchen viel munterer, saugt begierig, in den Exkrementen einzelne Vibrionen. 7. Sept. und weiterhin Kaninchen gesund. Am 1. Okt. nach 21 Tagen mit Chloroform getötet; bei der Sektion alle Organe normal.

Kulturen aus den Organen, außer der Leber, ergeben negativen Befund; aus der Leber ein Vibrio, zusammen mit Bac. coli, gewonnen.

Der Vibrio morphologisch normal, agglutiniert mit spezifischem Serum 1 : 500, vor dem Versuch agglutinierte er mit demselben Serum 1 : 5000.

Experiment No. 3. 24. Nov. 1909. 4 saugende Kaninchen No. 6, 7, 8 und 9 von einem Wurf, infiziert per os mit denselben Kulturen von gleicher Virulenz, $^1/_{10}$ des Agarreagensglases auf 100 g Körpergewicht. No. 6 Gewicht 120; No. 7 100; No. 8 85 und No. 9 100 g.

No. 6 am 26. Nov. nachts nach 39 Stunden eingegangen; bei der Sektion starke Hyperämie des Darmes, Choleravibrionen gefunden.

No. 7, 8 und 9 blieben am Leben.

No. 7 nach 14 Tagen mit Chloroform getötet. Nirgends Vibrionen zu finden, desgleichen bei No. 8, das nach 20 Tagen getötet wurde.

No. 9 nach 7 Tagen getötet. Nirgends Vibrionen zu finden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Experiment No. 4. 4. Dez. 1909. 4 saugende Kaninchen von einem Wurf wurden infiziert mit Cholerakultur, $^1/_2$ des Reagensglases auf 100 g Körpergewicht.

Kaninchen No. 10, Gewicht 190; No. 11 160; No. 12 150; No. 13 270 g.

No. 12 geht nachts am 7. Dez. ein. Vorher Durchfälle. Bei der Sektion starke Hyperämie des Dünndarmes; vergrößerte dunkle Milz, flüssiges Blut. Kulturen aus verschiedenen Darmabschnitten, aus Milz, Leber und Herzblut gefertigt, Vibrionen aus dem Darm und der Leber gewonnen.

No. 10 nach 5 Tagen eingegangen, hat während der ganzen Zeit nicht gefressen. Am 2. und 3. Tage starke Durchfälle. In diesen Tagen Vibrionen aus den Exkrementen gewonnen. Bei der Sektion große, dunkle Milz, unbedeutende Darmhyperämie, flüssiges Blut. Vibrionen aus dem Darm und der Leber gewonnen.

No. 11 nach 28 Tagen getötet. Bei der Sektion Organe normal, Vibrionen nirgends zu finden.

No. 13 nach 13 Tagen eingegangen. Todesursache unaufgeklärt, Vibrionen nirgends gefunden.

Bakteriologische Untersuchungen der Exkremente von Kranken.

Beob. No. 10. Der Kranke A. J. am 20. Sept. in das Peter-Paulshospital aufgenommen. Schwere Choleraform, reisartige Stühle.

In den Schalen fast Reinkultur des Vibrio.

22. Sept. Die Exkremente auch weiterhin reisartig. Kulturen auf Conradi-Agar ergeben einzelne Kolonieen von Bac. coli und eine Unmenge von Vibrionen.

27. Sept. Die Stühle gefärbt, halbflüssig. Viele Vibrionen in den Schalen, auf Conradi-Agar vereinzelte Kokkenkolonieen und viele Kolonieen von Bac. coli.

30. Sept. Geformte Stühle. In den Schalen wenige Vibrionen, viele Bac. coli.

7. Okt. Geformte Stühle, einzelne Kolonieen von Vibrionen, fast Reinkultur des Bac. coli.

8. Okt. Keine Vibrionen gefunden, nur Bac. coli; nach 18 Tagen verschwanden die Vibrionen.

Beob. No. 22. Der Kranke J. F., in das Peter-Paulshospital am 13. Sept. aufgenommen. Mittelschwere Choleraform. Reisartige Stühle enthielten am 15. Sept. viele Vibrionen und andere Mikroben. 20. Sept. Viele Vibrionen in gefärbten, flüssigen Stühlen. Auf Alkaliagar außer vielen Vibrionenkolonieen einige Kolonieen des Bac. pyocyaneus. 30. Sept. Geformte Stühle; Pat. verläßt das Krankenhaus. Vibrionen in großer Menge von schwacher Agglutinationsfähigkeit; außerdem starkes Wachstum von Bac. pyocyaneus. 7. Okt. Aus normalem Stuhl ein nicht agglutinierender Vibrio gewonnen und eine große Menge von Bac. pyocyaneus. 14. Okt. Einzelne Vibrionenkolonieen bei starkem Ueberwiegen des Bac. pyocyaneus gewonnen. 20. Okt. 2 Kolonieen des Vibrio in Schalen gewonnen, die ganze Flora besteht fast aus Reinkultur des Bac. pyocyaneus. 5. Nov. Zum letztenmal wenige lebensfähige Vibrionen gewonnen (nach 48 Tagen) in geringer Anzahl von Kolonieen. Große Mengen des Bac. pyocyaneus und Streptococcus. 7. Nov. Keine Vibrionen gewonnen; fast Reinkultur des Bac. pyocyaneus, wenige Kokken und einzelne Kolonieen von Bac. coli.

Versuche zur Erhaltung der Vibrionen im Organismus der Meerschweinchen.

Exper. No. 31. 10. Okt. 1909. Es werden 4 Meerschweinchen (No. 1, 2, 3 und 4) genommen, Gewicht 225, 250, 260 und 240 g. Zur Prüfung der minimal tödlichen Dosis des Vibrio No. 328 in die Bauchhöhle ein-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

geführt. No. 1 erhielt $^1/_{10}$, No. 2 $^1/_{20}$, No. 3 $^1/_{50}$ und No. 4 $^1/_{100}$ von 24-stündiger Agarcholerakultur.

No. 1 nach 16 Stunden eingegangen; aus allen Organen und dem Bauchhöhlenexsudat ein Vibrio mit normalen morphologischen Eigenschaften und einer Agglutination (1 : 10 000) wie beim Ausgangsvibrio gewonnen.

No. 2 nach 24 Stunden eingegangen; Vibrionen gefunden.

No. 3 blieb am Leben.

No. 4 nach 8 Tagen eingegangen. Bei der Sektion ein geringes Exsudat in der Bauchhöhle; die Oberfläche des Darmes hyperämisch, Gefäße erweitert, Milz vergrößert, dunkel, schlaff. Kulturen aus dem Exsudat, Milz, Leber, Darm und Herzblut gemacht. Ueberall Vibrionen gefunden.

Agglutinationsfähigkeit des Vibrio aus Exsudat 1 : 8000, aus Leber 1 : 500, aus Milz 1 : 2000, aus Darm 1 : 4000 und aus Herzblut 1 : 5000. Vibrionen aus der Leber wachsen auf dem ersten Agar schwächer als die übrigen.

Exper. No. 32. 2. Nov. 1909. Zum Experiment werden 4 Meerschweinchen (No. 5, 6, 7 und 8) im Gewicht von 210, 220, 215, 240 g genommen. Eine Cholerakultur, deren minimale tödliche Dosis für ein Meerschweinchen von 200 g Gewicht $^1/_{20}$ einer Agarkultur war, wurde allen 4 Meerschweinchen in die Bauchhöhle in Menge von $^1/_{25}$ (24-stündiger) Agarkultur eingeführt.

Außerdem erhielten 2 Meerschweinchen (No. 5 und 6) je 0,2 ccm Choleravaccine unter die Rückenhaut, No. 5 12 Stunden nach der intraabdominalen Injektion, No. 6 sofort nach der Injektion.

No. 7 und 8 Kontrolltiere.

No. 8 nach 9 Tagen eingegangen. Bei der Sektion befindet sich Exsudat in der Bauchhöhle. Vibrionen aus dem Exsudat und allen parenchymatösen Organen gewonnen. Aus dem Exsudat Agglutination 1 : 5000, aus Milz 1 : 1000, aus Herzblut 1 : 1000, aus Leber ein nichtagglutinierender Vibrio, aus Dünndarm 1 : 1000.

No. 6 nach 36 Stunden eingegangen; aus allen Organen normalagglutinierende Vibrionen gewonnen.

No. 7 und 8 blieben am Leben.

Exper. No. 33. 23. Nov. 1909. 3 Meerschweinchen (No. 9, 10 und 11) von 210, 140, 280 g Körpergewicht wird in die Bauchhöhle $^4/_5$ minimaler tödlicher Dosis von Cholerakultur für ein Meerschweinchen von 200 g Gewicht eingespritzt. Die minimale tödliche Dosis war $^1/_{20}$ einer 24-stündigen Agarkultur. Außerdem bekommen No. 10 und 11 0,25 ccm Choleravaccine subkutan, No. 10 gleichzeitig mit der intraabdominalen Injektion, No. 11 12 Stunden nach der Injektion.

No. 9 Kontrolltier, bleibt am Leben.

No. 10 nach 3 Tagen eingegangen. Aus den Organen Vibrionen gewonnen, deren Agglutinationsfähigkeiten sich wenig voneinander unterschieden: 1 : 5000, 1 : 3000, 1 : 2000.

No. 11 nach 14 Tagen eingegangen. Bei der Sektion findet sich in der Bauchhöhle ein klebriges Exsudat, die Organe hyperämisch. Es werden Kulturen aus dem Exsudat, Darm, Leber, Milz und Herzblut gemacht. Vibrionen werden aus dem Exsudat, Darm, Leber und Milz erhalten. Im Herzblut werden keine Vibrionen erhalten. Der aus der Leber erhaltene Vibrio unterschied sich von den anderen Vibrionen sowohl durch seine geringe Größe als auch durch Abwesenheit der Agglu-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tinationsfähigkeit. Aus dem Exsudat agglutinierte der Vibrio 1 : 2000, aus dem Darm und der Milz 1 : 500. In allen Experimenten wurden die Meerschweinchen vor der Injektion auf den Vibrionengehalt in den Exkrementen untersucht; es wurden keine Vibrionen nachgewiesen.

Exper. No. 34. 30. Nov. 1909. 3 Meerschweinchen von 200, 240 und 270 g Gewicht (No. 12, 13 und 14) wird in die Bauchhöhle je $^1/_{30}$ 24-stündiger Agarkultur der Choleravibrionen, deren minimale tödliche Dosis $^1/_{25}$ für ein Meerschweinchen von 200 g Gewicht beträgt, eingespritzt. Außerdem erhielten No. 13 und 14 je 0,25 ccm Choleravaccine subkutan, No. 13 12 Stunden, No. 14 24 Stunden nach der intraabdominalen Injektion.

No. 12 blieb am Leben.

No. 13 ging nach 8 Tagen ein. Bei der Sektion werden Vibrionen aus verschiedenen Organen gewonnen. Die Agglutinationsfähigkeit der zur Injektion benutzten Vibrionen war 1 : 10 000. Die aus den Organen gewonnenen Vibrionen ergaben folgende Agglutinationszahlen: Aus dem Exsudat 1 : 5000, aus der Milz 1 : 2000, aus dem Herzblut 1 : 2000, aus der Leber 1 : 500.

No. 14 ging nach 5 Tagen ein. Bei der Sektion werden Vibrionen aus verschiedenen Organen gewonnen; die Agglutinationszahlen sind für das Bauchhöhlenexsudat 1 : 5000, die Milz und das Herzblut 1 : 3000, die Leber 1 : 2000.

Exper. No. 35. 20. Jan. 1910. 3 Meerschweinchen (No. 15, 16 und 17) von 275, 220 und 250 g Körpergewicht wird in die Bauchhöhle $^1/_{30}$ 24-stündiger Agarvibrionenkultur, deren minimale tödliche Dosis $^1/_{25}$ ist, eingespritzt. Ein 4. Meerschweinchen (No. 18, Gewicht 250 g) erhielt nur 0,25 ccm Choleravaccine subkutan.

No. 16 und 17 erhielten außerdem je 0,25 ccm der Vaccine subkutan 12 und 24 Stunden nach der intraperitonealen Injektion.

No. 15 blieb am Leben.

No. 18 blieb am Leben.

No. 16 ging nach 10 Tagen ein. Bei der Sektion werden Vibrionen sowohl im Bauchhöhlenexsudat wie in Milz, Leber und Gallenblase gefunden. Vibrionen, die aus der Milz gewonnen wurden, sind schwach gekrümmt, schwaches Wachstum in der ersten Generation; auf Strichpräparaten aus der Milz erschienen sie als geschwellte, kaum gekrümmte Stäbchen. Vibrionen aus dem Bauchhöhlenexsudat stark verdickt, färben sich gut. Agglutination: Aus dem Exsudat 1 : 5000, aus Leber 1 : 1000, aus Milz 1 : 2000, aus dem Herzblut 1 : 3000.

No. 17 nach 13 Tagen eingegangen. Vibrionen aus allen parenchymatösen Organen, dem Bauchexsudat, der Gallenblase, dem Herzblute gewonnen. Aus der Gallenblase gelang es, Vibrionen auf Agar nur von dem zweiten Pepton zu gewinnen; sie verflüssigen langsam die Gelatine erst vom 6. Tage an und geben kein Indol; ihre Agglutination ist 1 : 500. Der Vibrio aus dem Exsudat agglutiniert 1 : 4000, aus der Milz 1 : 4000, aus der Leber 1 : 1000, aus dem Herzblut 1 : 2000. Der aus der Galle durch Ueberimpfung auf Agar gewonnene Vibrio ergab nach 6 Generationen eine Agglutination von 1 : 2000.

Schlußfolgerungen.

1) Die Choleravibrionen können längere Zeit nach der Genesung bei Kranken in den Exkrementen nachgewiesen werden (bis zu 55 Tagen nach eigenen Beobachtungen; bis zu 93 Tagen nach Beobachtungen von Zeidler).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Der Choleravibrio unterliegt im menschlichen Körper biologischen und morphologischen Veränderungen, welche ihn von dem Typus des Cholerabacillus abweichen lassen. Er kann seine Agglutinationsfähigkeit vollkommen einbüßen.

3) Denselben Veränderungen unterliegt der Choleravibrio im tierischen Organismus, was durch Experimente an Tieren und mit Exkrementen außerhalb des Körpers bewiesen werden kann.

4) Das Verschwinden der Choleravibrionen aus dem Darmkanal und die Veränderungen, welchen sie unterliegen, hängen in hohem Maße von der Flora der Umgebung ab.

5) Diese Veränderungen sind derart, daß häufig der Kommabacillus bei zweifellos Cholerakranken nicht gewonnen werden kann.

6) Mit der Mehrzahl der untersuchten, veränderten Vibrionen kann man mittels Laboratoriumsmethoden Mikroorganismen erhalten, die sich dem Grundtypus nähern.

7) Von den Methoden, welche die Agglutinationsfähigkeit der Vibrionen wieder herstellen, ist keine absolut sicher; sie müssen alle angewandt werden.

8) In den Exkrementen außerhalb des Organismus können die Vibrionen ihre Lebensfähigkeit sehr lange Zeit erhalten (bis zu 7 Monaten im eigenen Falle und bis zu 9 Monaten im Falle von Dr. Kulescha), wenn sie ohne Luftzutritt aufbewahrt werden. Im entgegengesetzten Falle verschwinden sie früher.

9) Jeder Vibrio, welcher aus den Exkrementen während einer Epidemie oder am Anfang derselben gewonnen ist, muß, wenn er auch nicht agglutiniert, Anlaß zum Verdacht auf Cholera geben, und zwar weil die Agglutinationsfähigkeit der Choleravibrionen sehr veränderlich ist.

Literatur.

1) Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. 3. 1903. u. Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 18. 1894.
2) Jakowlew, W. J., Kurzer Bericht über die Tätigkeit des städtischen Laboratoriums. St. Petersburg 1908.
3) —, Kurze Mitteilung über die Tätigkeit der St. Petersburger städtischen Sanitätskommission. 1910. u. Stühlern, Med. Klinik. 1907. No. 48 u. 49.
4) Sawtschenko, J. G., Zur Aetiologie der Cholera. (Wratsch. 1893. p. 26.)
5) Wiltschur, A. P., Neue Angaben zur Bakteriologie der Cholera. (Wratsch. 1894.)
6) Wlaew, G., Einige Notizen zur Frage über die Charakteristik der Choleravibrionen. (Journ. Obtschestwa Narodnago Zdravia. 1894. No. 6 u. 7.)
7) Zlatogoroff, S. J., Ueber die Choleraepidemie von 1907 im Saratowschen Gouvernement. (Wratschebnaja Gazeta. 1908. No. 13.)
8) —, Zur Frage der Diagnostik der Choleravibrionen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909.)
9) Barrenscheen, Ueber die Agglutination der Choleravibrionen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 2.)
10) Kulescha, G. S., Zur pathologischen Anatomie der Cholera asiatica. (Klin. Jahrb. Bd. 24. 1909. Heft 1.)
11) Brülloff, L. P., Zur Frage über die Verbreitung der Choleravibrionen im Organismus. (Russky Wratsch. 1910. No. 47.)
12) Tschiknaveroff, L. G., Ueber das Vorhandensein und den Aufenthalt von Choleravibrionen in der Galle. (Russky Wratsch. 1910. No. 3.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

13) Metschnikoff, E., Annal. de l'Inst. Pasteur. 1894. p. 447 u. 547. — L'immunité dans les maladies infectieuses. Paris 1901.
14) Filoff, A. G., Wie lange können die Faeces Cholerakranker als Infektionsquelle dienen? (Russky Wratsch. 1909. No. 27.)
15) Zitiert nach dem Artikel von W. J. Jakowleff, „Das Wasser" in dem Enzyklopädischen Wörterbuch, welches im Jahre 1909 von Ettinger herausgegeben wurde.
16) Kolle, Aetiologie und bakteriologische Diagnose der Cholera. (Volksseuchen. Vierzehn Vorträge.) Jena 1909.
17) Ransom und Kitashima, Dtsche med. Wochenschr. 1898.
18) Asakawa, N., Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 45, zitiert nach dem Artikel von Volk, „Ueber Agglutination" im Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforsch. Bd. 2. 1909.
19) Haendel und Woithe, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 34. 1910. Heft 1.
20) Jirnoff, Der Einfluß gewisser Bedingungen auf die Lebensfähigkeit und Agglutination der Choleravibrionen. (Russky Wratsch. 1909. No. 8.)
21) Manteufel, Das Problem der Entwickelungshemmung in Bakterienkulturen und seine Beziehungen zu den Absterbeerscheinungen der Bakterien im Darmkanal. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 57. 1907.)
22) Zabolotny, D. K., Jakowleff, W. J., Zlatogoroff, S. J. und Kulescha, S. S., Zur Diagnostik der Choleravibrionen. Vortrag auf dem XI. Pirogoffschen Aerztekongreß, 22. April 1910. Bericht. (Beilage zur Wratschebnaja Gazeta. 1910.)
23) Köhlisch, Ueber die angebliche Aenderung der Agglutinabilität der Choleravibrionen durch Aufenthalt im Wasser. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910. Heft 2.)

Nachdruck verboten.

Further studies on blackhead in turkeys.

[Contribution No. 11 from the Division of Biology of the Rhode Island Agricultural Experiment Station, Kingston R. I., U. S. A.]

By **Philip B. Hadley,** assisted by **Elizabeth E. Amison.**

In the first communication[1]) dealing with blackhead in turkeys, representing the results of investigations completed to July 1908 in coöperation with the Bureau of Animal Industry of the U. S. Department of Agriculture, the subject was considered primarily from the standpoint of avian coccidiosis. It was stated in that publication (op. cit.) that the work accomplished up to that time made no pretense of being complete; and at least one other parasite was mentioned (op. cit., p. 211) which it was suggested possessed the power to produce the pathological conditions characteristic of blackhead. Since 1908 the investigations upon the etiology of the blackhead disease have been steadily pursued at the Rhode Island Station with the aim of ascertaining, more accurately than could be done at the time of the former publication, some of the more obscure etiological factors in the disease. The more recent studies have centered especially about the accompanying bacteria in intestinal and hepatic disturbances in poultry; and also about the group of flagellated organisms, which have been observed in varying numbers in many cases of blackhead in turkeys and in several other species of birds. The aim of the present preliminary communication is to discuss briefly the possible agency of flagellates in producing hepatic and intestinal lesions that are characteristic of blackhead[2]).

1) Cole, L. J., and Hadley, P. B., assisted by W. F. Kirkpatrick, Blackhead in turkeys. (Rhode Island Agric. Exper. Station. Bull. 141. June 1910.)

2) It is to be observed that the term, blackhead, like that of "white diarrhea", is one which covers several different diseases. The "white diarrhea" of the poultrymen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Flagellated organisms are common residents of the intestinal tract of nearly all poultry, and have been known for many years. They usually have been considered as harmless commensal parasites, although in some cases a pathogenic activity has been attributed to them. Although they are frequently present in small numbers under normal conditions, any pathological condition in the intestinal tract appears to cause a rapid increase in their numbers, and it is no doubt for this reason that their number is sometimes multiplied in cases of coccidial infection. During the investigations of the past two years there have come to notice, however, some cases of cecal and liver infection in which coccidia appeared to be absent, or present only in smal numbers. In these instances the flagellated organisms were frequently present in the intestinal and cecal content in great numbers. Besides these recognized motile flagellates, there have been observed from time to time certain histological elements the identity of which up to the present time has not been ascertained. These last are now believed to be certain other stages in the development of the flagellates found in the cecal and intestinal content; and it is now assumed that they play a definite rôle in the production of some of the pathological conditions characteristic of blackhead. Whether more than one species of flagellates is resident in the intestinal tract has not yet been determined, but this seems very probable. If a single species is present, its form is subject to many variations.

Examination of the cecal contents.

All of the cases of blackhead which furnished material for the observations contained in this discussion had this point in common: They showed the presence, in the cecal contents, of immense numbers of actively motile flagellated organisms. In case the ceca contained no core, they were present in the cecal contents; if a core was present they were found either in the central lumen of the core or between the outside of the core and the epithelium; or if the epithelium was desquamated, between the core and the mucosa. Sometimes they were present in one cecum, sometimes in both; they were often present in smaller numbers in a cecum severely affected and containing a large hard core, than in a cecum where there was no core and where the walls were only slightly thickened. Flagellates were also found in the duodenum, small intestine and large intestine. The number in the cecal content was usually greatest when the walls were moderately thickened and there was present a thick yellow fluid.

The free motile flagellates varied greatly in shape and in size. Some were spherical, some oval and some pear-shaped; a very few were narrow and drawn out to some length. The size of those which moved most actively varied between 5 μ and 12 μ. The small motile forms were

---

includes no less than three, and probably more, specifically distinct diseases, all of which produce at least a few prominent symptoms which are identical. These diseases are 1) intestinal coccidiosis (cause, Eimeria avium); 2) bacterial enteritis, which frequently occurs as a general septicemia (cause, Bacterium pullorum Rettger, and probably one or two other organisms); 3) aspergillosis, sometimes called „brooder pneumonia" (cause, Aspergillus fumigatus (?) and probably some other species of fungi). In a like manner it appears to be true that the socalled blackhead disease includes several specifically distinct diseases. One of these is coccidiosis; another is, in all probability, flagellate infection; and besides these there are possibly still other etiological factors which are not yet recognized. Needless to say any of these factors may work either together or separately to produce the characteristic symptoms and lesions.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

pear-shaped, while the larger motile forms were usually oval, ameboid, or nearly spherical. Besides the stages just mentioned, there were also many extremely large spherical or ameboid forms which were not motile at the time of observation. The non-motile forms thus included the smallest and the largest bodies that were observed in fresh preparations.

The detailed structure of these bodies in the unstained condition was difficult to observe. The body appeared colorless in all cases. Internally the structure appeared to consist of finely granular protoplasm in which could be observed in some cases (especially the larger forms) a small circle, which migth represent a nucleus; and a larger clear body, which might be regarded as a contractile vacuole. By placing the organism in a glycerine solution or in an egg-albumen mixture it could be observed that the majority of the motile elements possessed two or three flagella arising from a common center at the anterior end. At the posterior end or slightly at one side, appeared a short "Achsenstab". In the larger pear-shaped bodies the "Achsenstab" appeared to represent the direct continuation of the posterior end of the organism, and seldom exceeded in length two thirds the length of the organism. In other cases it appeared to arise, not at the end, but slightly at one side. On the larger oval and spherical bodies, stretching from the vicinity of the "Achsenstab" to the vicinity of a small granule located close to the anterior border of the organism, extended a delicate vibratory membrane lying in folds. This membrane was not observed on the very small pear-shaped bodies, nor on the large spherical bodies, but it may have been present nevertheless.

In fresh preparations there were also observed, besides the motile forms (or non-motile forms similar in shape to the latter) mentioned above, certain larger bodies, usually spherical and measuring from 12 μ to 16 μ (average 14 μ) in diameter. These bodies were usually clear and homogeneous in structure, but occasionally demonstrated a few granules either near the center or along the margin. In other cases there appeared, lying close to one border, a large flattened nucleus-like object, as if an inclusion had pressed the nucleus of a host-cell close against the cell-wall. These bodies, it may be remarked, were especially numerous in the content of the large intestine and in the excrement. Still other bodies, similar to the former, but not possessing the external crescentric nucleus, were observed from time to time, in which there were present a few granular remnants of protoplasm, and sometimes also small round bodies measuring 1.4 μ to 5 μ, and showing no evident structure except a finely-granular protoplasm. In a few cases these small spherical bodies were observed free in the intestinal or cecal content. The smallest of them resembled large cocci. In addition to the foregoing there were observed in fresh preparations certain large (14 μ to 16 μ by 10 μ to 12 μ) oval bodies possessing a firm singly-contoured membrane and showing the protoplasm grouped largely in the center of the cell. Except for the single outer membrane these bodies somewhat resembled the cysts of coccidia in certain stages of development, especially unfertilized, and consequently degenerating, macrogametes. The inner protoplasm was usually gathered toward the center or was looseley adherent either in strands or in fine granules. In sections this protoplasm stained very faintly or not at all.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Examination of sections.

Ceca. Specimens of cecum the contents of which showed the various histological elements described in the proceeding paragraphs were fixed in Zenker's fluid or in Doflein's fixative and preserved in 95 per cent alcohol; sections were cut from 4 μ to 9 μ in thickness. These were stained in iron-hematoxylin and eosin. Microscopic examination under high power showed the following points.

The walls of the cecum were greatly thickened and an internal core was sometimes present. The thickening was observed chiefly in the mucosa, submucosa and muscularis mucosa, and was apparently due 1) to the presence of innumerable spherical, oval, or ameboid shaped bodies lying free in spaces of the connective-tissue stroma or in phagocytic cells; 2) to the proliferation of small round cells and the presence of great numbers of endothelial cells. In addition, the connective-tissue reticulum appeared to be greatly increased. In some cases much of the epithelium was present, but in other cases it was almost entirely absent, and the crypts of Lieberkühn had degenerated in varying degrees. A sort of amorphous material sometimes occupied the site of the epithelium and was frequently present in small areas in the mucosa. In the lumina of the ceca were observed in sections a variety of histological elements even greater than that in fresh preparations. Giant cells including one or more bodies were frequently observed. A description of the elements found in the lumina and in the tissues of the ceca will now be given.

In the first place it seemed desirable to connect, if possible, the elements found in fresh preparations with those observed in sections. Regarding this point it may be said in brief that all the elements observed in the fresh preparations were seen, properly stained, in the sections. These, moreover, revealed much additional structure, and also demonstrated several other bodies not observed in fresh preparations.

All the bodies observed in sections in the cecal content and in the crypts of Lieberkühn were slightly smaller than the corresponding bodies seen in fresh material; this was doubtless due to shrinkage resulting from fixation. In general it may be said that the parasitic bodies stained bluish red when iron-haematoxylin, or Delafield's haematoxylin, and eosin were used. They could be easily differentiated from all normal tissue cells, although it was not always easy to differentiate them from certain artifacts produced by cell degeneration appearing in poorly preserved material, or in material in which fixation was imperfect or too long delayed. The nuclear material when appearing at all, always stained a deep bluish black, and showed especially well in sections stained by the iron-haematoxylin and eosin method.

In sectioned material stained as stated above, the smallest pear-shaped bodies (3 μ to 5 μ) seen in fresh preparations stained faintly a homogeneous pink, with the exception of a small nucleus situated slightly nearer the anterior (more blunt) end of the body. No flagella were observable on these forms under 4 μ in length. The pear-shaped bodies which were somewhat larger (4 μ to 6 or 7 μ) usually showed more detail in structure. The nucleus was relatively much larger and was located decidedly nearer to the anterior end of the organism. Near the anterior tip of the body there often appeared a small dark-staining granule. A minute "Achsenstab" was sometimes visible at this stage

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

even in stained preparations. In the still larger pear-shaped bodies 6 μ to 8 μ, which were relatively broad for their length, the nucleus was large and prominent. The anterior granule was seen to lie near to the point of departure of two or three flagella, the "Achsenstab" came clearly to view; and in addition there could be observed (in case the organism was located in the right plane) a bandlike area extending along one border of the body from near the "Achsenstab" to the vicinity of the terminal granule. It should be said that this band which probably represents the vibratory membrane could be seen in any section, in only a few parasites.

In the oval and smaller spherical bodies all the structures observed in the larger pear-shaped organisms could be seen clearly. In addition, there was often present anteriorly a vacuole-like structure which did not stain strongly. The nucleus is relatively smaller than in the pear-shaped bodies, and it often lay in the center of a nuclear "halo". The chromatin, which during the early growing stages was diffuse, appeared to contract into a karyosome which in some bodies was very small.

The bodies of the next larger size seldom manifested the pear-shape, but were usually either spherical or ameboid in form. They seldom showed the membrane or a trace of the flagella, and only occasionally a remnant of the "Achsenstab". The terminal granule on one edge was more often seen. In a few cases all four structures showed clearly in bodies which were 8 μ to 12 μ in diameter, but this was exceptional. The nucleus of these bodies was sometimes central, but more often eccentric in position. It usually appeared as a clear area 1,5 μ to 3 μ in diameter, bordered by a distinct ring, inside of which lay a small karyosome. There was, however, great variation in the appearance of the nuclear elements in this and also in later stages. In some cases the karyosome was apparently quite absent and the chromatic material was deposited in the form of minute granules about the inner border of the nuclear ring, leaving the center clear. In other cases there were two karyosome-like bodies within a single oval clear area; sometimes these were connected by a distinct nuclear thread. Nuclear elements outside the nucleus were also sometimes so connected. In the larger bodies, of the type being considered, there were often present two nuclear "halos" with their karyosomes, and occasionally one to several large granules outside the single nucleus. In still other instances the body was occupied by a large number of dark-staining spherical nuclear fragments, which might have been looked upon as ingested bacteria within amebas, were it not for the fact that the same appearance obtained in organisms located deep in the tissues where bacteria were presumably absent. It is hardly to be doubted that all these appearances represented nuclear divisions.

The larger spherical bodies, which were observed in fresh preparations, appeared in sections in various phases. In the first place there were large round solidly-staining bodies surrounded on one side or on both sides with a clear area which had the shape of a thin crescent. In this clear area could be observed several dark granules, some of which occasionally had a position inside a "halo". Sometimes two and sometimes three were present at the margin of the sphere and located diametrically opposite to one another. No sign of nuclear material was observed in the central mass. The appearance of these bodies in sections stained with iron-haematoxylin and eosin, and also

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in smear preparations stained with the Romanowsky malarial stain, left small doubt that they represented encysted flagellates showing the nuclei in various stages of the reducing divisions, outside of the pink-staining reserve substance which, without apparent nuclear elements, occupied the entire central area.

In addition to these solidly-staining bodies just described, there were other large, and more often oval, bodies which possessed a fairly firm singly-contoured wall and showed the faintly-staining cytoplasm arranged loosely in granules or in strands. These were probably identical with elements previously described. Occasionally these demonstrated a broken or irregular appearance. Although many of these forms gave evidence of representing disintegrated parasites within phagocytic endothelial cells (especially in those cases in which large nucleus of the devouring cell could still be observed), many other somewhat similar bodies appeared to represent encysted parasites that had divided to form a daughter generation, which in some instances had left the mother cell, but in other cases were still enclosed within the wall of the latter. Evidence in favor of this view lies in the following observations: 1) that within the bodies mentioned above, and lying distributed among the loose and apparently disintegrated protoplasm, there frequently occurred minute spherical bodies, measuring from 1,6 μ to 4 μ in diameter, staining somewhat more faintly than the larger bodies, and demonstrating a small central nucleus; 2) that these small spherical bodies were observed lying close to the mother cell, which might be empty or might still contain a few remaining daughter cells; 3) that there could be observed a continuous series of developmental stages between the small spherical bodies and the larger pear-shaped bodies described above; 4) that occasionally the smallest pear-shaped forms, themselves, were observed within the wall of the mother cell.

The elements which have been described above were found, as has been stated, in the cecal content, sometimes in cases in which the epithelium was intact, and sometimes when it was desquamated and lay in broken masses in the cecal lumen. It can probably be said that forms similar to those described above might be found — in fact are found — in birds which appear to be in normal health, since Smith (cf. infra) reports finding many flagellates in the ceca of turkeys examined by him in connection with his studies on blackhead in 1895. But the important point lies in the following fact: histological elements which were apparently identical with those observed in the cecal content were seen both superficially and deep in the mucosa, submucosa and muscularis mucosa of the cecum; and also in the lesions of the liver. The apparent identity of these elements found in the two locations can be demonstrated only after studying particularly favorable sections. The examination of many slides showing these parasites has revealed the fact that different cases show the parasites (taken collectively) in different stages of development. For instance, in one case the nuclei of practically all the parasites show only a small karyosome lying within the clear "halo", and surrounded by the nuclear ring. In other cases the majority of all nuclear elements appear to be in the state of active division, and numerous mitoses, and stages in nuclear fragmentation can be observed. It is also to be observed that these differences in the development of the parasites appear, not only in different cases, but often in different regions of the same pathological specimen. For instance there are

Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

sometimes broad areas which contain large parasites showing the loose apparently disintegrating protoplasmic structure and also the daughter cells, while in other regions practically all the bodies appear to belong to a younger generation of parasites.

The observation of the small spherical bodies in sections of the mucosa or submucosa requires a careful examination of narrowly restricted areas, since the smallest bodies stain more faintly than the larger, and furthermore because they often require for their observation a different focus. Bodies so small may occupy different levels in a 9-micra section, and may be quite outside of a focus which locates for instance an 8- or 10-micra parasite. Thus, although thin sections tend to reduce the number of small parasites in a given area, they make easier the observation of those which are present, since these fall within a narrower focal range. Favorable staining also demonstrates in the mucosa the presence of these small bodies within the cysts. Here, however, they stain still more faintly than after they have been recently liberated, and are present in the connective-tissue stroma. The membrane surrounding them appears to be somewhat impervious to stains.

The pear-shaped, oval, and ameboid forms which, deep in the mucosa, demonstrate flagella, "Achsenstab", terminal granule and membrane, are more difficult to observe than are the younger stages; and it is seldom that all of these points can be observed in connection with a single organism so located. It is in areas where the histological elements stand more widely separated, as at the edges of the sections, and in rifts in the tissues, that observation of these structures is best facilitated. In such locations, especially fairly large parasites of ameboid form, possessing still the remnant of "Achsenstab", flagella, terminal granule and, in exceptional cases the membrane, could be observed.

In addition to the forms mentioned above there appeared occasionally in sections of the mucosa and submucosa ameboid or oval bodies from which smaller bodies appeared to be given off by budding. The "buds" were seldom larger than 2 μ in diameter and always possessed a minute nucleus. Certain other oval bodies manifested a longitudinal streak through the center suggesting division. It may be stated in this connection that pseudopodia were never present on any organism observed, and none of the assumed encysted forms were even seen to possess a doubly contoured cyst-wall such as is characteristic of most amebas in the encysted state.

Liver. In sections made from the necrotic areas of the liver the same elements as those found in the ceca were observed in large numbers. The majority of bodies there located appeared as spherical, oval or ameboid forms without trace of "Achsenstab", flagella, membrane or terminal granule. They occurred free in the connective-tissue stroma where, in some cases, they appeared to have largely replaced the liver cells; they were also observed in phagocytic cells. Close observation has demonstrated, however, that in the liver, as well as in the ceca, a certain number of the smaller spherical, or ameboid bodies possessed the remnants of flagella and of "Achsenstab"; furthermore, that there were present the same small bodies, both spherical and pear-shaped, occurring both free in the tissues and within the mother cells. Many of these bodies also showed some characteristics of flagellate morphology as in the instance of the cecal infection.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Conclusion.

It is ordinarily not a matter of great difficulty to construct, out of the histological elements found in diseased tissues, many interesting, though not always instructive, protozoan life-histories. It is believed, however, that the data presented in this paper offer reliable grounds for the opinion that many cases of blackhead in turkeys and other poultry may be interpreted as infections with one or more species of flagellated organisms. These may be identical with the flagellates observed by Theobald Smith[1]) in the ceca of turkeys; they are undoubtedly identical with some of the other bodies described by Smith (op. cit.) under the name of Amoeba meleagridis. No attempt will be made at this time to place in their proper developmental sequence the histological entities mentioned in the present paper. The course of development probably does not depart widely from that of certain other parasitic flagellates which have the habit of losing their flagella and becoming ameboid at certain stages in their development.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu der Arbeit von N. Klimenko: „Bakteriologische Untersuchungen des Blutes von keuchhustenkranken Kindern und von mit Keuchhusten infizierten Tieren".

Von Dr. **G. Arnheim** in Berlin.

Unter obigem Titel hat Klimenko in No. 5/6 des Bandes 56 des Centralblattes über eine Reihe von Versuchen berichtet. Klimenko resümiert:

2) „Man kann annehmen, daß unter besonderen Bedingungen (Komplikation des Keuchhustens) während der letzten Tage des Lebens des Kindes eine Keuchhustenbakteriämie in seltenen Fällen zur Beobachtung kommt."

Ferner

7) „Die bakteriologische Untersuchung des Keuchhustens zwingt zu der Annahme, daß der Keuchhusten als eine lokalisierte Infektionskrankheit der Atmungswege anzusehen ist."

Herrn Klimenko scheinen meine Arbeiten über Keuchhusten vollkommen entgangen zu sein. Denn anders kann ich mir nicht erklären, daß er meine zum Teil schon vor längerer Zeit ausgesprochenen, ganz identische Anschauungen über das Wesen der Keuchhustenerkrankung sowie analoge Beobachtungen an Tieren, die mit Bordet-Gengouschen Keuchhustenbakterien infiziert waren, nicht erwähnt.

Bereits in einer älteren Arbeit[2]) habe ich den Leitsatz (No. 1) aufgestellt:

---

1) Bull. No. 8. Bur. Animal Industry. U. S. Dept. of Agriculture. 1895.

2) Ueber die patholog. Anatomie des Keuchhustens etc. (Virch. Arch. Bd. 174. 1903. p. 542.)

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

„Der Keuchhusten ist ein infektiöser Katarrh der Schleimhaut der Atmungsorgane, besonders der Trachea", eine Anschauung, die jetzt wohl den meisten Kinderärzten geläufig ist und sich auch bereits seit geraumer Zeit in dem Lehrbuch von Baginsky[1]) findet. Eine Ausnahme scheint nur Czerny[2]) und seine Schüler davon zu machen; sie haben die aus vorbakterieller Zeit stammende Lehre von der Reflexneurose beim Keuchhusten wieder hervorgeholt und suchen so die mühselig in der Keuchhustenfrage gewonnenen Anschauungen aufs neue zu konfundieren.

Zu No. 7 der von Klimenko aufgestellten Leitsätze führe ich aus meiner letzten Arbeit wörtlich an:

„Der Nachweis der Bakterien (von Bordet-Gengou) gelang nur, wenn zur Infektion sehr große Dosen verwendet wurden und das Tier in wenigen Tagen zugrunde ging. Aus diesem Grunde halte ich die Annahme Bordets und Gengous für berechtigt, daß ihre Bakterien eine Intoxikation, keine Infektion bewirken." (Vgl. auch die Stichprobe der Tierversuche.)

Ferner

„Die Keuchhustenerkrankung ist in der Mehrzahl der Fälle als eine Lokalerkrankung aufzufassen. Eine Metastasierung ist jedenfalls nicht häufig und nur bei schwerster Infektion zu erwarten."

Die postmortale Bakteriämie bei Keuchhusten halte ich im Gegensatz zu Klimenko aus Analogieschlüssen bei anderen Infektionskrankheiten für wenig wahrscheinlich. —

Es gereicht mir zur Genugtuung, daß Herr Klimenko in Uebereinstimmung mit den Entdeckern der Keuchhustenbakterien — Bordet und Gengou — meine Anschauungen über das Wesen der Keuchhustenerkrankung teilt.

Nachdruck verboten.

Pseudoparasitisme d'une nymphe d'Hydrachnide.

Par le Dr. **Emile André,** Genève.

Les Hydrachnides se rencontrent assez fréquemment, à divers stades de leur développement, vivant en ectoparasites sur des Invertébrés aquatiques, en particulier sur des Arthropodes et des Mollusques, mais leur existence à l'intérieur même des organes des Vertébrés n'a été signalée jusqu'à présent que chez les Poissons (voir: Ch. D. Soar, Note or the occurence of living Hydrachnid larvae in the stomach of a Trout. [Journ. Quekett Club. 2. Vol. 8. 1903. p. 463—64]). Le cas mentionné par Soar, qui consiste dans la présence de nombreuses larves de Neumania, vivantes, dans l'estomac de la truite, relève très probablement du pseudoparasitisme; il en est de même, croyons-nous, de celui, qui fait l'objet de ces lignes. Il s'agit d'une nymphe d'Hydrachnide qui, d'après la détermination de Mr le Dr. Walter, de Bâle, se rapporte

1) Baginsky, Lehrbuch d. Kinderkrankheiten.
2) Czerny, Therapeutische Monatshefte. 1909.
3) Keuchhustenuntersuchungen. (Arch. f. Kinderkrankh. Bd. 50. p. 316, 318, 320.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

au genre Piona. Nous l'avons trouvée, parfaitement vivante, dans la partie terminale de l'intestin grêle d'un Cygnus olor ♂ juv., provenant du port de Genève. Cette nymphe se trouvait parmi les villosités intestinales et, engluée par du mucus et des débris de l'épithélium de l'intestin, elle ne se mouvait qu'avec difficulté; mais, après qu'elle eût été débarrassée de ces mucosités, elle reprit l'allure agile de ses congénères. Il est probable que le Cygne aura avalé cette nymphe de Piona en cherchant sa nourriture dans l'eau et il est hors de doute, ainsi que nous le disions plus haut, qu'il ne s'agirait là que d'un cas de pseudoparasitisme. Il était cependant bon de le relever et d'insister sur l'intérêt que présente la résistance de cet acarien à l'action des sucs digestifs et son adaptation à un milieu si différent de son milieu normal.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über den Einfluss des Diphtherietoxins auf den autolytischen Prozess[1]).

[Aus der Medizinischen Klinik der Kgl. Universität Genua; Vorsteher Prof. Ed. Maragliano.]

Von Dr. **Amerigo Barlocco,** Privatdozent und Assistenzarzt.

In einer früheren Arbeit, welche ich zusammen mit Raffo veröffentlichte, berichtete ich über die Veränderung, welche der autolytische Prozeß (soweit es sich um das proteolytische Ferment handelt) verschiedener Tierorgane durch das Diphtherietoxin erfährt[2]).

In gegenwärtiger Arbeit sollen einige weitere Untersuchungen über denselben Gegenstand berichtet werden, welche sich besonders auf folgende drei, sowohl in allgemein pathologischer wie in klinischer Hinsicht nicht ganz unwichtige Punkte beziehen:

1) Ob die durch den Zusatz von Diphtherietoxin bewirkte Zunahme des ungerinnbaren N auch durch andere Untersuchungsverfahren nachweisbar ist.

---

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl, Turin.

2) In der erwähnten Arbeit (Pathologica. 1910. No. 36) wurde eine frühere Arbeit von Hess und Saxl über denselben Gegenstand (Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 8) nicht erwähnt. Bei dieser handelte es sich jedoch um wenige Versuche, bei denen eine von der unseren etwas abweichende Technik angewendet wurde.

Diese Autoren schließen aus ihren Resultaten im wesentlichen, daß der Zusatz von Diphtherietoxin, Tetanustoxin oder Streptokokkentoxin die postmortale Autolyse folgendermaßen beeinflußt; in einer ersten Periode, 5—6 Stunden, reagieren die Zellen auf den Zusatz von Toxin durch eine Hemmung der Eiweißspaltung (Latenzperiode, welche der toxischen Wirkung des Diphtheriegiftes vorausgeht?). Auf die Hemmung folgt eine bedeutende Beschleunigung der Autolyse, welche nach Ansicht der Verff. mit der gesteigerten Eiweißzersetzung vergleichbar ist, welche man auf dem Höhepunkt der Infektionskrankheiten beobachtet.

Die Verff. gehen von den Untersuchungen Aronsons aus, welcher in den exzidierten Muskeln Fiebernder eine Steigerung der Autolyse beobachtete.

Im möchte jedoch hervorheben, daß die genannten Autoren bei ihren Versuchen zu starke Konzentrationen des Toxins anwendeten, indem sie durchschnitttlich 0,5 g des Toxins auf 2,45—4 des Organs (also 20—12,5 Proz.) zusetzten. Diese Konzentrationen überschreiten zu sehr diejenigen, mit welchen man es in pathologischen Fällen zu tun hat, als daß man aus den gelieferten Resultaten irgendwelche Schlüsse ziehen dürfte.

Aus den Protokollen der Verff. geht ferner hervor, daß dieselben nur bei einem einzigen Versuch Prüfungen zu verschiedenen Zeiten ausgeführt haben, und zwar bei dem Experiment mit Leber + Tetanustoxin.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Ob unmittelbar beim Kontakt mit dem Bakteriengift nachweisbare Veränderungen der Eiweißspaltung eintreten.

3) Wie sich unter der Wirkung des Diphtherietoxins die verschiedenen Bruchteile der stickstoffhaltigen Substanzen verhalten, aus welchen der ungerinnbare N zusammengesetzt ist.

* * *

Bei einem ersten Versuch habe ich ein in der gewöhnlichen, in meiner früheren Arbeit beschriebenen Weise hergestelltes Kalbmilzautolysat angewendet. Es sei nur bemerkt, daß nach dem Erwärmen statt mit Essigsäure, mit 2-proz. saurem Kaliumphosphat angesäuert wurde.

Tabelle I.

	Nach 24-stündigem Verweilen im Thermostat	Nach 72-stündigem
Kontrolle	1,05	1,32
4-proz. Diphtherietoxin	1,30	1,47
1-proz. „	1,39	1,65
1 ‰	1,47	1,96

Bei dieser selben Milzprobe + Diphtherietoxin wurde das Verhalten des nicht präzipitierbaren N vermittels der gewöhnlichen Lösung von 10-proz. Phosphorwolframsäure in 1-proz. HCl untersucht.

Tabelle II.

	Nach 24 Std.	Nach 72 Std.	Nach 96 Std.
Kontrolle	2,04	3,32	3,68
4-proz. Diphtherietoxin	2,60	3,98	4,17
1-proz. „	2,52	3,68	3,80
1 ‰ „	2,43	3,45	3,81

Ein kurzer Blick auf beide obigen Tabellen zeigt uns, daß diese beiden Methoden im großen und ganzen uns gleiche Resultate liefern wie diejenigen, welche ich vorher bei Ansäuerung mit Essigsäure erhalten hatte, d. h. infolge des Zusatzes von Diphtherietoxin beobachtet man eine Steigerung der Eiweißspaltung. Diese Steigerung scheint jedoch mit verschiedenen Modalitäten stattzufinden, je nachdem man die eine oder die andere Methode anwendet. Wenn man mit saurem Kaliumphosphat ansäuert, ist die Zunahme des unkoagulierbaren N der Konzentration des Toxins umgekehrt proportional; während bei Ansäuerung mit Essigsäure oder Präzipitation mit Phosphorwolframsäure die Vermehrung des N der Konzentration des Diphtherietoxins direkt proportional ist.

Die Regelmäßigkeit dieses Verhaltens (Ansäuerung mit saurem Kaliumphosphat) kann man noch besser aus Tabelle III ersehen, wo die Verdünnung des Toxins eine größere ist und welche sich auf die Frage der Veränderungen bezieht, welche sofort nach dem Kontakt zwischen Toxin und Organ eintreten.

Tabelle III.

	Ochsenleber (gewaschen durch die Pfortader) + Diphtherietoxin	
	Nach 5 Minuten Kontakt	Nach 72 Stunden
Kontrolle	0,924	1,42
2 ‰ Toxin	1,008	1,48
1 ‰‰ „	1,14	1,57
1 ‰‰ „	0,98	1,64
1 ‰‰‰ „	0,83	2,0
1 ‰‰‰ „	0,81	1,95

Eine weitere beachtenswerte, aus obiger Tabelle ersichtliche Erscheinung ist das Vorkommen von zwar nicht sehr ausgesprochenen,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

jedoch deutlichen (und bei der von uns jedesmal doppelt ausgeführten Bestimmungen konstant nachweisbaren) Modifikationen in dem Gemisch Leber + Toxin, unmittelbar nach stattgefundenem Kontakt.

Diese Modifikationen bestehen in einer geringen Zunahme des N bei verhältnismäßig konzentrierten Toxinlösungen (2 ‰, 1 ‰, 1 ‰‰), und in einer geringen Hemmung bei stark verdünnten Lösungen des Diphtherietoxins (1 ‰‰‰, 1 ‰‰‰). In der darauffolgenden Periode machen wir wieder die bereits oben gemachte Beobachtung, daß man die stärkste Zunahme des N bei Anwendung der höchsten Verdünnungen des Toxins findet.

Es sei hier erwähnt, daß ich bereits in meiner früheren Arbeit die Beobachtung gemacht hatte, daß sofort nach dem Zusammentreffen der Ochsen- resp. Hundeleber mit einer konzentrierten Diphtherietoxinlösung (3,45 Proz.) eine Hemmung eintrat. Bei Anwendung von Kalbsmilz wurde hingegen eine Beschleunigung beobachtet (Kontrolle 1,83 ‰, AT 2,11 ‰).

Bei einer anderen Reihe von Versuchen untersuchte ich, ob bei Aenderung der Technik der Autolyse dieselben durch das Diphtherietoxin bewirkten Modifikationen nachweisbar seien, und wie sich die verschiedenen Bruchteile des unkoagulierbaren N bei dem Prozeß der Leberautolyse in Gegenwart des Diphtherietoxins verhalten.

Es wurde dabei das Verfahren angewendet, welches Salkowski angegeben und Drjewski[1]) und neuerdings Yoskimoto[2]) zu chemischen Untersuchungen über das Carcinom benutzt haben. 200 g Ochsenleber oder -fleisch werden auf vaskulärem Wege mit 0,85-proz. Kochsalzlösung sorgfältig ausgewaschen, und zwar so lange, bis die Lösung klar heraustritt, dann fein zerschnitten, durch ein Metalldrahtnetz passiert, durch Zusatz von Kochsalzlösung wieder auf 200 g gebracht und in einem geräumigen weithalsigen Glaskolben mit 2000 g gesättigten Chloroformwassers gemischt.

Nach der gewollten Dauer des Verweilens im Thermostaten bei 37° entnimmt man 500 ccm, gießt dieselben in ein Glasgefäß und filtriert sie durch ein trockenes Filter; 400 ccm des Filtrates werden in dem Warmwasserbade auf 200 ccm eingedampft. Nach Abkühlung wird die Flüssigkeit wieder auf 400 ccm gebracht und wieder durch ein trockenes Filter filtriert. Man erhält auf diese Weise eine verdünnte, von gerinnbaren Eiweißstoffen freie Lösung, in welcher man folgende Stoffe bestimmen kann:

1) Gesamtstickstoff,
2) Stickstoff in Form von Monoaminosäuren (samt dem Harnstoff und dem Allantoidin),
3) Albumosen-Stickstoff,
4) Stickstoff in Form von Purinbasen,
5) Stickstoff in Form von (Diaminosäuren + Pepton + Ammoniak).

Bei der Bestimmung dieser verschiedenen Bruchteile ging ich folgendermaßen vor:

1) Oxydierung und darauffolgende Destillierung in $^n/_{10}$ Schwefelsäure.
2) 50 ccm der Lösung werden mit 5 ccm Salzsäure (Densität 1,124) angesäuert. Man fällt das Ganze durch 10-proz. Phosphorwolframsäure in 1-proz. HCl. Man bringt das Gemisch, samt dem Präzipitat, auf

1) Biochem. Zeitschr. Bd. 1. 1906. S. 229.
2) Biochem. Zeitschr. Bd. 22. H. 3—4.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

100 ccm, filtriert durch ein doppeltes trockenes Filter, und bestimmt in 20 ccm des Filtrates nach Kjeldahl den Stickstoff.

3) 50 ccm der Flüssigkeit werden mit 1 cm verdünnter H_2SO_4 angesäuert. Man sättigt mit Zinksulfat, und überläßt das Gemisch 24 Stunden sich selbst; danach filtriert man, wäscht das Filtrat sorgfältig mit gesättigter Zinksulfatlösung und läßt dann vollständig austrocknen. Danach bestimmt man den Stickstoff in der üblichen Weise.

4) 100 ccm werden durch Ammoniak schwach alkalisiert. Man filtriert den entstandenen Niederschlag aus Phosphat ab, wäscht sorgfältig, und fällt das Filtrat, nach Zusatz von Ammoniak, durch ammoniakalische 3-proz. Silbernitratlösung.

Nach 10—12-stündigem Stehen im Dunklen wird das Präzipitat so lange mit Ammoniakwasser gewaschen, bis das Spülwasser mit Silbernitrat keine Reaktion mehr gibt. Man läßt austrocknen und bestimmt den N zusammen mit dem Filter.

5) Diese Bestimmung geschieht durch Subtraktion: 1 — (2 + 3 + 4).

Tabelle IV.
Nach 5 Minuten des Kontaktes: Ochsenleber + Diphtherietoxin.

	Gesamt-N	Monoamino-säuren-N	Albu-mosen-N	Purin-basen-N	(Diaminosäuren + Pepton + Ammoniak)-N
Kontrolle	0,902	0,227	0,288	0,182	0,205
Toxin 1 ‰	0,908	0,218	0,288	0,182	0,220
„ 1 000 ‰	0,910	0,229	0,288	0,186	0,227

Tabelle V.
Nach 10-tägigem Verweilen im Thermostaten: Ochsenleber + Diphtherietoxin.

	Gesamt-N	Monoamino-säuren-N	Albu-mosen-N	Purin-basen-N	(Diaminosäuren + Pepton + Ammoniak)-N
Kontrolle	1,176	0,428	0,520	0,330	0,192
Toxin 1 ‰	1,764	0,452	0,535	0,392	0,385
„ 1 000 ‰	1,976	0,502	0,602	0,392	0,480

Tabelle VI.
Nach 10-tägigem Verweilen im Thermostaten: Hundeleber + Diphtherietoxin.

	Gesamt-N	Monoamino-säuren-N	Albu-mosen-N	Purin-basen-N	(Diaminosäuren + Pepton + Ammoniak)-N
Kontrolle	0,924	0,3275	0,392	0,168	0,0365
Toxin 1 ‰	0,924	0,285	0,392	0,168	0,0790

Tabelle VII.
Nach 15-tägiger Autolyse.

	Gesamt-N	Monoamino-säuren-N	Albu-mosen-N	Purin-basen-N	(Diaminosäuren + Pepton + Ammoniak)-N
Kontrolle	1,68	0,518	0,224	0,798	0,14
Toxin 1 ‰	2,01	0,658		0,798	0,29

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auf diesem Wege habe ich 4 Bestimmungen ausgeführt, und zwar 2 (die ersten beiden) bei Ochsenleber und 2 (die beiden letzten) bei Hundeleber. Die Resultate habe ich in tabellarischer Form zusammengestellt.

* * *

Obige Tabellen sind schon an und für sich sehr beweisend, so daß mir eine ausführliche und lange Erläuterung überflüssig erscheint.

Aus denselben ersieht man in erster Linie, daß wenn man als Antiseptikum Chloroform zusetzt, die Autolyse bedeutend langsamer vor sich geht als bei der Toluolmethode, eine Tatsache, welche schon mehrfach von anderer Seite nachgewiesen worden war. Auch kann man nicht die minimalen Unterschiede verwerten, welche in den verschiedenen Stickstoffbruchteilen sofort nach geschehenem Kontakt (Tab. IV) vorkommen.

Nach 72-stündigem Verweilen im Thermostaten beobachtet man noch keine merklichen Unterschiede zwischen dem Autolysat: Hundsleber + Diphtherietoxin, und der Kontrolle.

Bei dieser Gruppe von Versuchen fehlt uns die Zahl des ungerinnbaren N bei Beginn des Versuches; jedoch läßt der niedrige Wert, welchen man nach 72-stündigem Verweilen im Thermostaten sowohl bei der Kontrolle wie bei dem Autolysat mit Toxin findet, aus Analogie mit den Werten, welche beim Beginn des Versuches mit Ochsenleber (Tab. IV) gefunden wurden, annehmen, daß bis zu dieser Periode das proteolytische Ferment in der Entfaltung seiner Tätigkeit gehemmt worden ist, und zwar sowohl im Kontroll-Autolysat wie in demjenigen mit Zusatz des Toxins.

Nach 10-tägigem Verweilen im Thermostaten beobachtet man hingegen beträchtliche Unterschiede (Tab. V), indem in dem Autolysat mit Zusatz von Diphtherietoxin eine ausgesprochene Zunahme des N, und im besonderen des Diaminosäuren-N (+ Peptonen-N + Ammoniak-N), des Monoaminosäuren-N, des Albumosen-N und schließlich des Purinbasen-N.

Die stärkste Spaltung geschah auch hier im Autolysat mit höchster Verdünnung ($1^0/_{000}$) des Toxins, während die Werte bei der Verdünnung zwischen denen der Kontrolle und denjenigen stehen, welche der soeben erwähnten maximalen Verdünnung entsprechen.

Nach 15-tägigem Verweilen im Thermostaten (Tab. VIII) beobachten wir eine weitere Zunahme des nicht koagulierbaren N im Autolysat mit Zusatz von Toxin $1^0/_{00}$. Die Unterschiede sind jedoch nicht so groß, wie wenn man mit stärkeren Verdünnungen des Toxins und mit Ochsenleber arbeitet und die Proben kürzere Zeit im Thermostaten läßt.

Ich hatte bereits in meiner früheren Arbeit hervorgehoben, daß bei Diphtherietoxin + Autolysat (mit Toluol) das Optimum der durch das Bakteriengift bewirkten Beschleunigung in den Zeitabschnitt zwischen der 72. und der 94. Stunde fällt. Wenn wir, wie es bei uns geschehen ist, die Versuchsbedingungen ändern, so wird sich das Optimum, wie nach allem anzunehmen ist, nach einer späteren Periode verschieben.

Wenn ich nun die wichtigsten Ergebnisse meiner gegenwärtigen Versuche kurz zusammenfassen darf, so möchte ich besonders die Tatsache betonen, daß die unmittelbare Berührung des Toxins mit der direkt vom Tier herstammenden Zellenmasse imstande ist, in dieser beträchtliche und nachweisbare chemische Veränderungen in bezug auf die Entfaltung der Tätigkeit des in der genannten Masse vorhandenen proteolytischen Fermentes zu bewirken.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

D. h., während stark verdünnte Toxinlösungen eine Hemmung des genannten Fermentes zu bewirken scheinen, bewirken konzentriertere Lösungen (von $1^0/_{000}$, im Verhältnis zur Menge des Organs, an) eine Steigerung dieser Tätigkeit.

In den späteren Perioden (wenigstens wenn man mit Chloroformautolyse, oder mit der gewöhnlichen Toluolautolyse, unter Ansäuerung der Probe mit Kaliummonophosphat, arbeitet) beobachtet man ein etwas verschiedenes Verhalten, indem die stärksten Verdünnungen eine intensivere Spaltung erzeugen als verhältnismäßig geringere Verdünnungen.

Was nun die Autolyse in Gegenwart von Chloroform anbelangt, so wollen wir nur das bereits Gesagte wiederholen, d. h. daß auch diese, wenn man von der viel größeren Langsamkeit ihrer Entfaltung absieht, als Untersuchungsmittel bei solchen Untersuchungen anwendbar ist.

Die Bruchteile des Stickstoffs, welche bei Autolysat + Toxin die größte Zunahme aufweisen, sind im folgenden in diesbezüglicher absteigender Reihenfolge genannt:

N der Diaminosäuren (+ N des Pepton + N der Albumosen),
N der Monoaminosäuren,
N der Albumosen, und schließlich
N der Peptone.

Genua, Juli 1910.

Nachdruck verboten.

Ueber die Ruhragglutinine, insbesondere über ihr Verhalten in Krankenseren.

[Aus dem Essener bakteriologischen Laboratorium des Vereins zur Bekämpfung der Volkskrankheiten im Ruhrkohlengebiet.]

Von Oberarzt **Krägel,** Bredenay b. Essen a. d. Ruhr.

Die Erscheinung der Agglutination wurde bekanntlich zuerst im Jahre 1896 von Gruber, Durham und Bordet im Blutserum von Tieren, die gegen Typhusbacillen und Choleravibrionen immunisiert waren, entdeckt und kurze Zeit darauf von Pfeiffer und Kolle einem näheren Studium unterworfen. Einige Monate später berichtete Widal, daß auch das Blutserum von Typhuskranken in höheren Verdünnungen eine Agglutinationswirkung auf die Erreger der Krankheit, die Typhusbacillen, ausübte, und damit war ein wesentlicher Faktor bei der Sicherung der klinischen Diagnose in Typhusfällen geschaffen worden. Diese Stoffe im Blute infizierter Menschen, welche auf den betreffenden Infektionserreger eine spezifische Agglutinationswirkung hervorrufen, wurden dann auch nach und nach bei vielen anderen Infektionskrankheiten nachgewiesen. Infolgedessen findet die Seroreaktion heutzutage besonders bei Typhus, Ruhr, Cholera und Meningitis cerebrospin. epidemica häufig Anwendung und ist für den Kliniker in bezug auf die Differentialdiagnose oft ein unentbehrliches Hilfsmittel. Abgesehen von den Fällen, in denen allein durch mehrdeutige klinische Symptome die Diagnose nicht sichergestellt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

werden kann, z. B. in Fällen von Typhus, bei denen gleichzeitig der Verdacht auf Miliartuberkulose, Sepsis oder dergleichen besteht, ist die Widalsche Reaktion auch dann von nicht zu unterschätzender Bedeutung, wenn besonders bei Erkrankungen des Darmtraktus, bei negativem Befund in den Stuhlproben, durch die Untersuchung des Blutes festgestellt wird, ob es sich um einen Typhus oder Paratyphus, um eine durch den Typus Shiga-Kruse oder durch den Typus Flexner hervorgerufene Ruhr handelt. Hat die Feststellung des eigentlichen Krankheitserregers in diesen beiden Fällen auch keinen wesentlichen Einfluß auf die Art der Behandlung des Kranken, so läßt sie doch in prognostischer Hinsicht hinreichend sichere Schlüsse auf den Krankheitsverlauf ziehen. Ist es doch eine feststehende Tatsache, die durch Beobachtungen verschiedener Autoren bestätigt ist, daß im Gegensatz zum Typhus und zu der durch den Shiga-Kruse-Bacillus bedingten Ruhr der klinische Verlauf der Paratyphus- und Flexner-Ruhrerkrankungen bedeutend milder und leichter ist, die Mortalität bei letzteren nicht annähernd gleiche Höhe erreicht.

Weitere gute Dienste leistet die Widalsche Reaktion, wenn es sich darum handelt, in der Rekonvaleszenz oder noch später den mutmaßlichen Infektionsweg nachzuweisen. Besonders in sanitätspolizeilicher Hinsicht ist es bei Epidemieen oft von Wert, ein Verbindungsglied zwischen zwei völlig getrennt liegenden Krankheitsherden zu eruieren. Wie unterstützend der positive Ausfall der Seroreaktion in derartigen Fällen wirkt, zeigen deutlich zwei Epidemieen der letzten Jahre, die Hagenauer Ruhrepidemie des Sommers 1908 (1) und die Ruhrepidemie des Jahres 1909 in Essen a. d. Ruhr (2). Bei letzterer fielen die Stuhluntersuchungen der Personen, welche für die Verschleppung der Ruhr in andere entfernt liegende Stadtteile in Betracht kamen, negativ aus, allein durch die Anstellung der Agglutinationsreaktion mit ihrem Blutserum konnte erwiesen werden, daß der Verdacht der Uebertragung durch die Betreffenden gerechtfertigt war, trotzdem sie selbst keine wesentlichen Darmstörungen durchgemacht hatten. Bei der Hagenauer Epidemie lagen ähnliche Verhältnisse vor.

Ist man nun durch den positiven Ausfall der Widalschen Reaktion auf eine bestimmte Person aufmerksam geworden, so werden, abgesehen von dieser selbst, auch die Menschen ihrer Umgebung ein spezielleres Interesse beanspruchen müssen. Ist es doch leicht möglich, daß sie durch die Bacillen des Rekonvaleszenten, deren Nachweis in den Stuhlproben sehr häufig nicht mehr gelingt, angesteckt werden und somit zur Weiterverbreitung der Epidemie beitragen können, falls nicht sofort die nötigen Isolierungsmaßregeln getroffen werden.

In logischer Folge hieraus gibt die Seroreaktion eher einen festen Anhaltspunkt zur Ermittelung von Bacillenträgern, da sie, handelt es sich um eine größere Anzahl zu untersuchender Personen, schneller und leichter zu erledigen ist, einen viel weniger umfangreichen Untersuchungsapparat erfordert und größere Garantie für positive Resultate liefert als die Faecesuntersuchung, bei der häufig infolge Ueberwucherung durch andere Darmbakterien der eigentliche Infektionserreger dem Untersucher entgeht oder erst nach mehrmaligen Wiederholungen entdeckt wird.

Wenn die Prüfung der Krankensera auf Agglutinine in früherer Zeit nicht die ihr zukommende Würdigung erfuhr, so trug vor allem die Ungleichmäßigkeit der Methoden dazu bei und infolgedessen die verschiedenartigsten und widersprechendsten Resultate, welche die Autoren

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei ihren diesbezüglichen Versuchen fanden. Hetsch (3) gibt eine treffende Schilderung von den Unterschieden in der Technik bei der Anstellung der Reaktion: „Die Verdünnungen werden hier mit Kochsalzlösung hergestellt, dort mit abgekochtem oder sogar destilliertem Wasser, dort mit Bouillon, welche natürlich auch, ihrer nie ganz gleichmäßigen Zusammensetzung wegen, eine für derartig feine Reaktionen durchaus unbrauchbare Verdünnungsflüssigkeit ist.“ — „Die Beurteilung des Agglutinationsphänomens wird von dem einen durch makroskopische Besichtigung vorgenommen, von dem anderen unter Benutzung der schwachen Vergrößerung des Mikroskops, während ein dritter sogar mit der Oelimmersion nachforscht, ob nicht irgendwo 4 oder 6 Bakterien zusammenliegen, und er dann von einer positiven Agglutination berichten kann.“ Heutzutage ist die Methode der Agglutinationsprüfung eine viel einheitlichere geworden, demzufolge sind auch die Resultate übereinstimmender. Daher ist es nicht verwunderlich, daß die Serumreaktion jetzt ein Allgemeingut der Kliniker und praktischen Aerzte geworden ist, das sie als Hilfsmittel bei der Diagnosenstellung wohl ungern entbehren möchten.

Es wird vielleicht von Interesse sein, wenn ich in folgendem auf das Vorkommen von Agglutininen bei der übertragbaren Ruhr näher eingehe und ihr Verhalten gegenüber dem Infektionserreger zum Gegenstand genauerer Untersuchungen mache.

Die Bildung der Agglutinine in dem Blutserum von Menschen, die an bacillärer Ruhr erkrankt sind, verhält sich analog den Beobachtungen bei Typhus, Paratyphus und anderen durch Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe hervorgerufenen Infektionskrankheiten. Kruse (4) kommt sogar zu dem Schluß, daß die Serumreaktion bei Ruhr konstanter auftritt als bei Typhus. Nicht sofort mit den klinischen Symptomen, sondern erst mehrere Tage nach dem Beginn der Krankheit, lassen sich im Blutserum die für den Ruhrbacillus spezifischen Agglutinine nachweisen. Die Untersuchungen von verschiedenen Seiten zum Zwecke der Feststellung des Zeitpunktes, an welchem nach dem Auftreten der Krankheit die agglutinatorische Kraft des Blutes eindeutig ihre Wirkung ausübt, haben im allgemeinen übereinstimmende Resultate gezeitigt. Lentz (5, 6) fand, daß das Blutserum vom Beginn der zweiten Krankheitswoche an agglutinatorische Eigenschaften annahm, zu dem gleichen Resultat kamen Dörr (7), Luksch (8) und Eckert (9). Auch Vaillard und Dopter (10) machten die Beobachtung, daß die Agglutination am 7. bis 12. Tage auftritt, Rosenthal (11) gibt als Beginn der Reaktion den 10. bis 12. Tag an, Shiga (12) erhielt zuweilen auch erst in der dritten Woche ein positives Ergebnis. In den ersten Krankheitstagen konnte Jürgens (13) niemals spezifische Agglutination im Blutserum nachweisen, und ebenso fielen die Untersuchungen von Rosenthal (11) in der ersten Krankheitswoche stets negativ aus. Lüdke (14, 15) bestätigt diese Befunde, jedoch hatte er auch Ausnahmen von dieser Regel zu verzeichnen, indem er in einzelnen Fällen ein Agglutinationsvermögen des Blutserums schon am 4. und 5. Tage konstatieren konnte. Kruse (16, 4) fand die ersten positiven Agglutinationen am Ende der ersten Krankheitswoche und auch in einem Fall, einem leicht an der Ruhr erkrankten Assistenten, am 4. Krankheitstage eine stark positive Reaktion in einer Serumverdünnung von 1:100. Etwas von diesen abweichende Resultate ergeben die Untersuchungen von Lösener (17), dessen Agglutinationsversuche mit dem Serum der Kranken bis zum 13. Krankheits-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tage negativ ausfielen und erst in der dritten Woche sicher positive Resultate lieferten. Im Allgemeinen kann man von Beginn der zweiten Krankheitswoche ab auf eine agglutinierende Wirkung des Blutserums gegenüber dem Infektionserreger rechnen und muß ein bedeutend früheres Auftreten der Reaktion wohl als Ausnahme betrachten.

Der Zeitraum, in welchem die Agglutinine nach Ablauf der klinischen Symptome im Serum noch nachgewiesen werden konnten, umfaßt naturgemäß eine weitere Spanne. Lentz (6) und Rosenthal (11) fanden, daß schon in der 4. bis 5. Woche die Agglutinationskraft des Serums schnell abnimmt, ebenso stellten Heuser (18), Shiga (12), Birt (19) und Luksch (8) ein rasches Sinken des Titers in der Rekonvaleszenz fest, Vaillard und Dopter (10) erhielten schon 15—20 Tage nach der Genesung ein negatives Agglutinationsergebnis. Demgegenüber stehen Befunde, die dem positiven Reaktionsausfall viel weitere Grenzen setzen. So konstatierte Rosenthal (11) bei einem Fall noch am 52. Tage eine Agglutination in der Verdünnung 1:100, Foulerton (20) fand nach 3 Monaten, Lentz (21) noch nach 5—10 Monaten eine spezifische Wirkung des Serums in einer Verdünnung 1:20 bis 1:50. Nach Lüdke (15) sind die Agglutinine in der Regel nach $^1/_4$—$^1/_2$ Jahr aus dem Blute verschwunden. Kruse (4, 22) spricht sich dahin aus, daß sie noch viele Monate nach Ablauf der Erkrankung vorhanden sein können, sich freilich in leichten Fällen schon nach 1—2 Monaten verlieren. Nach Verlauf eines Jahres fand er keine agglutinatorische Fähigkeit des Blutserums mehr. Ein bestimmter Zeitpunkt für das Aufhören der Agglutinationskraft läßt sich schwer feststellen, da bei derartigen Untersuchungen sehr leicht ein „Bacillenträger", ein „Chronischkranker", mitunterlaufen kann, der nach einmal überstandener Ruhr vielleicht später des öfteren noch an nicht beachteten leichten Darmstörungen gelitten hat. Nach einer Mitteilung Küsters (23) war die Widalsche Reaktion in einem solchen Falle noch nach 3 Jahren in einer Serumverdünnung von 1:500 positiv. Flexner (27) und Foulerton (20) kamen bei „Chronischkranken" zu keinen einheitlichen Resultaten, teils erhielten sie nur niedrige Werte, zum Teil fiel die Prüfung negativ aus.

Während der Krankheit und im Beginn der Rekonvaleszenz könnne die Sera eine starke Vermehrung der Agglutinine aufweisen, so daß sie noch in starken Verdünnungen eine Wirkung auf den Krankheitserreger ausüben. Abgesehen von einigen Untersuchern, wie Chantemesse (25), welcher einen Höchsttiter von 1:150 fand, konnten die meisten Autoren mit einem viel niedrigeren Prozentgehalt an wirksamem Serum positive Ergebnisse verzeichnen. Korentschewski (26), Jürgens (13), Vedder und Duval (27) erhielten bei 500-facher, Birt (19), Dörr (28) noch bei 600-facher Verdünnung des Serums deutliche Häufchenbildung. Lentz (21), Lüdke (15), Kruse (22), Negri und Pane (29) wandten noch eine Verdünnung von 1:1000 mit positivem Erfolge an, Bofinger (30) berichtet sogar, daß Krankenserum, auf das 2000-fache verdünnt, noch die Fähigkeit, die Bacillen zu agglutinieren, einwandfrei besaß.

Inwieweit den Beziehungen zwischen der Höhe der Reaktion und der Schwere der Erkrankung ein Wert beizumessen ist, darüber sind in der Literatur nur wenige Angaben zu finden. Eine Uebereinstimmung herrscht in der Ansicht, daß in leichten Fällen die Agglutination nur schwach auftritt, des öfteren sogar überhaupt nicht nachzuweisen ist, dagegen bei mittelschwerer Erkrankung als konstante Begleiterscheinung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vorhanden ist (Lentz [5], Lehmann und Neumann [31], Korentschewski [26]). Einen schwachen oder negativen Ausfall der Reaktion fand Lentz (5) auch bei Infektionen, die ein schweres Krankheitsbild darboten, in gleicher Weise Korentschewski (26), der aber auch bei 7 unter 8 tödlich verlaufenden Fällen eine deutliche Wirkung des Krankenserums auf die Ruhrbacillen sah. Vaillard und Dopter (10) und Rosenthal (11) konnten bei Fällen mit letalem Ausgang keine Agglutination feststellen. Shiga (12) faßt seine Beobachtungen dahin zusammen, daß in schweren und mittelschweren Fällen die Agglutination positiv, in den leichten ganz schwach oder kaum nachweisbar (höchstens 1:10), in den letal verlaufenden Fällen ebenfalls sehr schwach (1:10 bis 1:20) ist, im übrigen sei eine gewisse Schwankung der Agglutination im Krankheitsverlauf wichtiger als ihre Quantität. Andere Autoren wiederum, wie Dörr (7), Lüdke (15), Kruse (32) sprechen sich dahin aus, daß ein Parallelismus zwischen der Titerhöhe des Serums und der Schwere der Erkrankung nicht besteht.

Die Bedeutung der Seroreaktion für den Kliniker wird vielfach gegenüber den Stuhluntersuchungen als untergeordnet hingestellt, am Krankenbett spiele sie, als in ihrem Auftreten zu unsicher, keine wesentliche Rolle (Conradi [33], Eckert [9]), sie käme nur als ein Bestätigungssymptom zum Krankheitsbilde in Betracht [Lüdke (15)]. Jürgens (34) und Vaillard und Dopter (10) haben ihr einen höheren Wert als Hilfsmittel bei der Diagnosestellung zuerkannt, und auch ihre Beihilfe zur Feststellung von Rekonvaleszenten im Interesse der Epidemiologie ist von verschiedener Seite, so von Lentz (6), Veröffentl. a. d. Geb. d. Militär-San.-Wes. (1) betont worden. Nach Ansicht von Shiga (12) ist ihr diagnostischer Wert gering, ihre Hauptbedeutung sei die prognostische: Eine rasch zunehmende Agglutination ließe auf einen günstigen Verlauf, gar keine oder nur langsam steigende auf einen schlimmen Ausgang einen Schluß ziehen. Wenn es sich darum handelt, die verschiedenen Arten der Ruhrbacillen einwandfrei zu identifizieren, so ist nach den Untersuchungen von Lentz (21), Martini und Lentz (35) und Kolle und Hetsch (36) das Serum von ruhrkranken oder -rekonvaleszenten Menschen dafür ungeeignet, weil, nach Angabe der letzteren, der Gehalt derartigen Serums an Agglutininen im allgemeinen ein zu geringer ist, und weil deshalb störende Gruppenagglutinationen bei seiner Anwendung leicht zu Trugschlüssen führen können."

Bekanntlich kommt bei der übertragbaren Ruhr nicht ein einheitlicher bakterieller Erreger in Betracht. Allgemein unterscheidet man jetzt drei Hauptarten des Dysenteriebacillus, den Bacillus Shiga-Kruse, Flexner und „Y". Eine vierte Art, der „Typus Strong", soll hier nur kurze Erwähnung finden, da er verhältnismäßig selten, in Deutschland überhaupt noch nicht gefunden worden ist. Die drei angeführten Haupttypen des Ruhrbacillus stehen sich im System sehr nahe, lassen sich aber durch ihr verschiedenes Wachstum auf Zuckernährböden und durch die Prüfung auf Indolbildung leicht differenzieren. Als ein weiteres Unterscheidungsmerkmal dient die Agglutinationsreaktion mit Hilfe hochwertiger Tier-Immunsera. Durch diese wird die Identifizierung des Shiga-Kruse-Bacillus ohne weiteres ermöglicht, eine Trennung des Flexnerschen von dem Y-Bacillus jedoch gestaltet sich durch die Seroreaktion allein zu einer großen Schwierigkeit oder ist überhaupt nicht möglich, da beide Typen einen sehr ähnlichen Rezeptorenapparat besitzen (Lentz [21], Veröffentl. a. d. Geb. d. Militär-San.-Wes. [1]). Ebenso fanden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kolle und Hetsch (36) bei ihren Untersuchungen, daß der Bacillus Y in agglutinatorischer Hinsicht dem Flexnerschen sehr nahe steht.

Eine gleiche Aehnlichkeit des Rezeptorenapparates zwischen dem Shiga-Kruseschen und Flexnerschen Bacillus konstatierte Shiga (37), doch gibt er dann zu, daß zu der Herstellung des verwendeten Pferdeimmunserums wahrscheinlich im Laufe der Jahre nicht immer ein und derselbe Stamm, sondern verschiedene benutzt wurden. Auch Lentz (38) und Lüdke (15) kamen bei ihren diesbezüglichen Nachuntersuchungen zu dem Resultat, daß das von Shiga benutzte Immunserum sowohl mit dem Stamm Shiga als auch Flexner hergestellt sein müsse, da sie niemals eine annähernd gleichhohe Beeinflussung beider Ruhrarten durch die von ihnen hergestellten Immunsera beobachten konnten. Jedoch bleibt die Wirkung eines Serums nicht ausschließlich auf die Dysenteriebacillen, mit denen es hergestellt ist, beschränkt, vielmehr kennzeichnet sich die nahe Verwandtschaft der Ruhrerreger miteinander dadurch, daß auch nicht homologe Stämme durch das Immunserum beeinflußt werden, freilich nur in bedeutend geringerem Grade. Martini und Lentz (35) wandten ein Shiga-Immunserum an, das den Bacillus Flexner in einer Verdünnung von 1:25 noch schwach agglutinierte, Kolle und Hetsch (36) erlangten mit einem solchen vom Titer 1:1000 noch bei 1:100 für Flexner-Bacillen und bei einem Flexner-Immunserum vom gleichen Titer in einer Verdünnung von 1:200 für Shiga-Kruse-Bacillen ein positives Resultat. Nach anderen Untersuchern, wie Kruse (4), Di Donna (39), Lentz (38) läßt sich die Agglutinationswirkung eines Immunserums auf die nicht homologen Bacillen nur bis zu einer Verdünnung von 1:50 nachweisen. Im Gegensatz hierzu stehen Befunde, wie sie Eisenberg (40) erheben konnte: Danach beeinflußte ein Shiga-Pferdeimmunserum vom Titer 1:1200 den Flexner-Bacillus noch bei 1:600 stark, und wurden bei umgekehrtem Verhältnis ebenfalls hohe Werte von Mitagglutination erreicht. Nach ihm sind diese abweichenden Befunde im Verhalten der Immunsera in dem Umstande zu suchen, daß verschiedene Tierarten zur Immunisierung benutzt werden. Seine Ansicht findet durch Untersuchungen von Haendel (41) eine Bestätigung, der feststellen konnte, daß durch Immunisierung von Eseln hergestellte Shiga-Sera Flexnersche und Y-Bacillen zum Teil sogar erheblich höher agglutinierten als die homologen, daß dagegen bei Verwendung von Kaninchen als Immuntiere keine nennenswerte Mitagglutination auftrat. Diese Erscheinung hat ihre Ursache wohl darin, daß schon normale Sera von verschiedenen Tierarten, wie z. B. vom Esel, stark agglutinatorische Eigenschaften gegenüber Flexner- und Y-Bacillen besitzen, Sera von anderen wiederum, wie von Kaninchen, Meerschweinchen, diese nicht aufweisen. So fand Dörr (7) bei seinen Versuchen keine Agglutination von Flexner-Bacillen durch normales Kaninchenserum, jedoch bei Verwendung von normalem Pferdeserum einen Höchsttiter von 1:100, Martini und Lentz (35) bei Benutzung von normalem Ziegenserum eine Beeinflussung von Flexner-Bacillen bis 1:50, von Kruse-Bacillen bis 1:10.

Zur Feststellung, ob es sich bei diesem Verhalten der nicht homologen Bakterien tatsächlich um eine Mitagglutination handelt, leistet die Castellanische Absättigungsmethode die besten Dienste. Shiga (37), Kruse (16), Eisenberg (40) haben gute Erfolge mit ihr erzielt, sie konnten durch Absättigen der Hauptagglutinine zugleich die Nebenagglu-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tinine aus dem Serum entfernen. Bei derartigen Versuchen muß aber stets die Forderung, die Kruse, Rittershaus, Kemp und Metz (42) stellen, erfüllt werden, nämlich das Absättigungsvermögen, ebenso wie die Agglutination, wechselseitig zu prüfen, damit klare eindeutige Resultate erzielt werden.

Die gleiche Erscheinung der Mitagglutination läßt sich nun nicht allein bei den künstlich hergestellten Tierimmunseris beobachten, sondern auch bei Krankenseris, die man ja ebenfalls als Immunsera mit niedrigerem Titer betrachten kann. Hierbei macht sich noch mehr ein Unterschied bemerkbar in der Hinsicht, ob es sich um Erkrankungen handelt, die durch den Bacillus Shiga-Kruse bedingt sind oder durch den Flexnerschen oder Y-Bacillus. Im ersteren Falle können die meisten Autoren von einer Wirkung des Krankenserums außer auf den Erreger der Krankheit auch auf Flexner- und Y-Bacillen berichten. Die Höhe der Mitagglutination wird verschieden angegeben: Nach Lösener (17) war sie nur ganz minimal, Eckert (9), Danti De Blasi (43), Amako (44) fanden, daß die fremden Bakterien durch das Serum der Kranken wohl eine deutliche Beeinflussung erfuhren, aber doch in viel schwächerem Grade als die homologen Bakterien. Nach Untersuchungen von Lentz (21), Liefmann und Nieter (45) erreichte der Titer der Mitagglutination bei Kruse-Infektionen oft eine bedeutende Höhe, Kruse, Rittershaus, Kemp und Metz (42) und Th. Müller (46) erzielten beim Austitrieren von Krankenserum auch für den fremden Bacillus, Flexner und Y fast die gleichen Endwerte der Verdünnungen wie für den Shiga-Kruse-Bacillus. Dörr (28) machte sogar die Erfahrung, daß in einzelnen Fällen der Agglutinationstiter für den Bacillus Shiga viel niedriger liegen kann als für diejenigen Arten der Ruhrbacillen, die an der Infektion keinen Anteil haben.

Ganz anders liegen die Verhältnisse, wenn eine Erkrankung, hervorgerufen durch den Flexner- oder Y-Bacillus, vorliegt. Hierbei ist von einem konstanten Vorkommen einer Mitagglutination des Kruse-Bacillus nicht die Rede, vielmehr sind diesbezügliche positive Befunde nur sehr spärlich. Kruse (4), Lentz (21), Liefmann und Nieter (42), Jürgens (13) erhielten durch Seren von Flexner- oder Y-Kranken, selbst wenn sie sehr starke Konzentrationen anwandten, niemals eine agglutinierende Wirkung auf den Shiga-Kruse-Bacillus. Unter 20 Erkrankungen an Flexner-Ruhr fand Dörr (7) bei 3 Patienten, deren Blut bis zu einer Verdünnung von 1:200 den Bacillus Flexner agglutinierte, einen Einfluß des Serums auf den Kruse-Bacillus in Verdünnungen von 1:50 bezw. 1:25 bezw. 1:10. Jedoch sagt auch er, daß „bei Flexner-Ruhr seltener Agglutination für Kruse-Bacillen beobachtet wird als umgekehrt, und daß sie sich auch in viel niedrigeren Werten bewegt, so daß man über die Natur der Hauptagglutination nicht im Zweifel sein kann“. Jedenfalls ist nach den meisten Forschern die Mitagglutination bei Kruse-Erkrankungen eine fast ständige Begleiterscheinung, und nur in wenigen Berichten, wie den Abhandlungen von Jehle (47), Jehle und Charleton (48), Auché (49) und Auché und Campana (50), findet man die gegensätzliche Beobachtung, wonach das Krankenserum allein auf den Infektionserreger eine agglutinierende Wirkung ausübt, die anderen Ruhrtypen aber völlig unbeeinflußt läßt.

Hat man den Grund für die Mitagglutination bei Immunseris, wie oben angeführt, in dem Vorhandensein von Dysenterieagglutininen im normalen Blut verschiedener Tierarten gefunden, so ist in gleicher Weise

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Ursache für die hohe Mitagglutination von Flexner- und Y-Bacillen in dem Gehalt des normalen menschlichen Serums an Agglutininen für Flexner und Y zu suchen. Und in der Tat sind von verschiedenster Seite positive Befunde darüber erhoben, daß Blutserum von Gesunden oder Andersartigkranken spezifische Agglutinine für Flexner-Bacillen enthält (Lentz [21], Lehmann und Neumann [31], Lösener [17]). In einer Serumverdünnung von 1:50 sahen Martini und Lentz (35) noch deutliche Häufchenbildung, Dörr (28) bei 1:60. Nach Berichten von Lüdke (15) und von Pilsbury (51) zeigte in wenigen Fällen normales Menschenserum, auf das 100-fache verdünnt, noch Agglutinationskraft. Liefmann und Nieter (45) haben bei Gesunden ebenfalls noch Agglutinationen bei 1:100 gesehen, jedoch muß man bei diesem Befund berücksichtigen, daß die betreffenden Untersuchungen bei Menschen vorgenommen wurden, die sich in einer von einer Y-Ruhrepidemie heimgesuchten Irrenanstalt befanden (Aerzte und Anstaltsinsassen); sie können daher nicht als ganz einwandfrei Gesunde angesehen werden.

Entsprechend den sehr vereinzelt dastehenden Fällen von Mitagglutination des Shiga-Kruse-Bacillus ist auch der negative Ausfall von Agglutinationsversuchen dieses Bacillus durch Normalsera. Martini und Lentz (35), Shiga (52), Dörr (28), Jürgens (13) u. a. erhielten niemals, auch wenn sie nur eine geringe Verdünnung des Serums gebrauchten, ein positives Resultat. Kruse, der in einer früheren Arbeit (22) angab, daß Serum Gesunder seinen Bacillus noch bei 1:50 agglutinierte, berichtigte sich später (4) in dieser Beziehung, da er unter 50 Normalseren kein einziges wiederfand, das eine positive Agglutinationsreaktion ergab. Lüdke (28) mußte seine Versuche bei Verwendung einer Serumverdünnung von 1:40 und 1:50 mit gleichem negativen Erfolge abschließen, jedoch berichtet er, bei 10- und 20-facher Verdünnung noch deutliche Agglutination der Kruse-Bacillen beobachtet zu haben. Im allgemeinen wird man wohl bei diesem geringen Gehalt der Normalmenschensera an Agglutininen für den Bacillus Shiga-Kruse nicht Gefahr laufen, einen falschen Schluß bei der Beurteilung einer Agglutinationsreaktion zu ziehen. Die niedrigsten Anforderungen für die Spezifität eines Ruhrkrankenserums stellt Korentschewski (26), nach dessen Ansicht eine positive Agglutination bei einer Verdünnung von 1:30 für Ruhr spricht. Lim (53) verlangt eine Agglutinationswirkung in höheren Verdünnungen, nach ihm läßt eine positive Seroreaktion bei 1:50 mit Wahrscheinlichkeit, eine solche bei 1:100 mit Sicherheit einen Schluß auf eine Ruhrinfektion ziehen. Im allgemeinen sieht man jetzt, wie es auch Lentz (21) und Kruse (4) betonen, ein positives Resultat bei einer Serumverdünnung von 1:50 für Shiga-Kruse-Erkrankungen und von 1:100 für Infektionen, die durch den Flexner- oder Y-Bacillus verursacht sind, als beweisend an. Pilsbury (51) setzt diese Forderung bei erkrankten Kindern etwas herab, indem er in diesem Falle schon eine positive Reaktion bei 1:20 als pathognomisch betrachtet.

In Nachstehendem möchte ich nun über die Befunde berichten, welche ich während einer Ruhrepidemie in Essen besonders in bezug auf das Verhalten der Krankensera erheben konnte.

Vom 23. Juni bis Ende des Jahres 1909 traten in der Stadt Essen 96 Fälle an übertragbarer Ruhr auf, und zwar handelte es sich in der Hauptsache um zwei größere Krankheitsherde, die, obwohl sie örtlich weit getrennt voneinander lagen, doch epidemiologisch in Verbindung zu bringen waren. Der ursprüngliche Herd wies 68, der andere 10 Ruhr-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fälle auf. Die übrigen 18 Erkrankungen waren in der Stadt verstreut. Ueber ihren ätiologischen Zusammenhang untereinander berichtet Fischer (2). In 64 Fällen konnte die Diagnose „bakterielle Ruhr" entweder durch den Nachweis der Ruhrbacillen im Stuhl oder durch den positiven Ausfall der Widalschen Reaktion erhärtet werden, und zwar wurde festgestellt, daß in 58 Fällen die Infektion durch den Bacillus Shiga-Kruse hervorgerufen war, in 6 Fällen durch den Typus Flexner oder Y. Von diesen letzteren traten aber nur 3 während der eigentlichen Epidemie auf, und diese standen überdies in keiner nachweisbaren Verbindung mit den Hauptherden der Seuche.

Während der ganzen Dauer der Epidemie wurden im Essener Laboratorium 152 Stuhlproben auf Ruhrerreger untersucht. Der Gang dieser Untersuchungen war folgender: Die Stuhlproben wurden nach Auswahl der geeignetesten Stellen (Blut, schleimiges Sekret etc.) auf v. Drigalski-Conradischen Milchzuckeragarplatten ausgestrichen. Nach 24 Stunden wurden von ihnen ruhrverdächtige Kolonien auf schräge Agarröhrchen abgeimpft und die dadurch erhaltenen Reinkulturen am nächsten Tage auf ihr Verhalten in Traubenzucker geprüft. Hatte sich kein Gas in den Gärungsröhrchen gebildet, dann folgte die Differenzierung der verschiedenen Ruhrtypen durch Aussaat auf Zuckerplatten, und zwar fanden Lackmusagarplatten mit Zusatz von Mannit und Maltose Anwendung, die bei Benutzung der Lentzschen Oberflächenkultur eine sichere Unterscheidung der Ruhrarten ermöglichten. Zuletzt wurde noch besonderer Wert auf das Verhalten der isolierten Stämme in hochwertigen Immunseris gelegt. Dazu verwendet wurde ein Shiga-Kruse-Immunserum vom Titer 1:1500 und ein Immunserum vom Titer 1:5000 für Flexner- und Y-Bacillen. Im Laufe der Epidemie stellten wir uns mit einem isolierten Y-Stamm ein Kaninchenserum her, das einen Endtiter von 1:20000 für Y-Bacillen erreichte. Flexner-Bacillen wurden von ihm in einer Verdünnung von 1:3000 noch schwach beeinflußt. Shiga-Kruse-Bacillen zeigten nur bis 1:50 ganz schwache Agglutination.

Neben der Stuhluntersuchung wurde von uns auch eine Reihe von Krankenseren auf ihren Gehalt an Ruhragglutininen geprüft. Im ganzen belief sich die Zahl der Seren, die der Widalschen Reaktion unterworfen wurden, auf 71. Aus den Notizen, welche die eingesandten Blutproben begleiteten, konnten wir in den meisten Fällen ersehen, an welchem Tage nach Beginn der Erkrankung den Patienten Blut entnommen war. Von der Verteilung der 47 positiv ausgefallenen Seroreaktionen auf die verschiedenen Krankheitswochen gibt folgende Zusammenstellung ein Bild:

In der 1.	Krankheitswoche	9	(= 19,15 Proz.)	positive	Agglutinationen
„ „ 2.	„	22	(= 46,8 „)	„	„
„ „ 3.	„	11	(= 23,4 „)	„	„
„ „ 4.	„	5	(= 10,64 „)	„	„

Wenn man auch hierbei berücksichtigen muß, daß die Seren ganz willkürlich eingesandt wurden, zum Teil zum ersten Male erst in der 3. Woche der Krankheit, man daher also keine sicheren Schlüsse auf das erste Auftreten der Agglutination ziehen darf, so kann man sich doch nicht dem Eindruck entziehen, daß eine Uebereinstimmung zwischen diesen Befunden und den oben angeführten Resultaten vieler Untersucher herrscht, nämlich daß sich in der Regel die Agglutinine in der zweiten Krankheitswoche ausbilden, ihre Kraft nach kurzer Zeit abnimmt, um bald völlig zu verschwinden. Untersuchungen darüber, wie lange nach

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Genesung noch die spezifischen Agglutinine im Blute vorhanden blieben, konnten nicht angestellt worden, da sich die betreffenden Rekonvaleszenten nach ihrer Entlassung aus dem Krankenhause unserem Machtbereich entzogen.

Bezüglich des Höchsttiters, welchen Ruhrkrankensera erreichen können, beschränken sich unsere Beobachtungen nur auf einen kleinen Bruchteil der uns zu Gebote stehenden Sera, da uns die Zeit fehlte, bei ihnen allen den Endtiter zu bestimmen. Indessen konnten wir analog den Mitteilungen verschiedener Autoren die Erfahrung machen, daß der Gehalt des Blutes Ruhrkranker an Agglutininen eine beträchtliche Steigerung erfahren kann. Positive Ergebnisse der Reaktion bei einer Serumverdünnung von 1:400 und 1:500 waren nicht selten, und in einem Falle konnte auch bei einer 1000-fachen Verdünnung noch deutliche Agglutination festgestellt werden.

Wir wandten folgendes Verfahren zur Agglutinationsprüfung der Sera an:

Die eingesandten geronnenen Blutmengen wurden nach Ablösung des Blutkuchens von der Glaswand eine Zeitlang sich selbst überlassen, bis sich das Blutserum abgesetzt hatte. Dieses wurde in kleine sterile Reagenzgläschen abgegossen und mit steriler 0,8-proz. Kochsalzlösung auf 1:10 verdünnt. Die Verdünnung geschah in der Weise, daß zu je 0,1 ccm mit steriler graduierter Pipette entnommenem Serum 0,9 ccm NaCl-Lösung zugefügt wurden. Wies die Mischung noch eine blutig tingierte Trübung auf, so wurde sie noch kurze Zeit zentrifugiert, damit sich die noch darin vorhandenen roten Blutkörperchen völlig am Boden des Gläschens absetzten. War man doch so der Gefahr enthoben, daß durch etwa noch in der Flüssigkeit suspendierte Erythrocyten später eine positive Agglutination vorgetäuscht wurde. Von dieser 10-fachen Serumverdünnung wurden dann in drei weiteren kleinen Reagiergläschen (1, 2 und 3) je 1 ccm einer Verdünnung von 1:50, bezw. 1:80, bezw. 1:100 hergestellt. In jedem der Röhrchen 1 und 2 wurde nunmehr eine Normalöse einer 24-stündigen Agarkultur des Bacillus Shiga-Kruse an der Wand fein verrieben, nach und nach in die Flüssigkeit hinabgeschwemmt und durch Schütteln gleichmäßig verteilt, bis eine vollständig homogene Aufschwemmung resultierte. Röhrchen 3 erhielt in gleicher Weise eine Oese einer gleichalten Flexner-Kultur. Schließlich wurden noch als Kontrolle in zwei Gläschen, von denen jedes 1 ccm reine Kochsalzlösung enthielt, je 1 Oese Shiga-Kruse- resp. Flexner-Kultur fein verteilt. Nach 6-stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° erfolgte die Untersuchung der Röhrchen, das Ergebnis wurde notiert, die Röhrchen blieben dann noch bis zum nächsten Tage im Brutschrank, damit wir durch eine mehrmalige Untersuchung eine Bestätigung des ersten Befundes erhielten. Daß wir die Bakterienaufschwemmungen so lange der Bebrütung bei 37° aussetzten, findet seine Begründung in der Beobachtung, daß die Ruhrbacillen wegen ihrer Unbeweglichkeit gegenüber den beweglichen Typhusbacillen schwerer agglutinieren. Nach Lentz (21) ist die Agglutination der Shiga-Kruse-Bacillen erst nach 20 Stunden, die der Flexnerschen und Y-Bacillen nach 6 Stunden beendet.

Die Prüfung des Reaktionsergebnisses geschah — nach leichtem Aufschütteln des Bodensatzes — mit unbewaffnetem Auge, höchstens wurde bei schlechtem Tageslicht eine schwache Lupe zu Hilfe genommen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir zogen nicht allein den Shiga-Kruse-Bacillus, sondern auch den Flexner-Bacillus in unsere Untersuchungen, weil, wie oben angeführt, während der Kruse-Epidemie auch Erkrankungen vorkamen, als deren Erreger Flexner- oder Y-Bacillen festgestellt worden waren. Wir machten nun die Erfahrung, wie schon viele Untersucher vor uns, daß in der Mehrzahl der Fälle neben der Agglutination des Bacillus Shiga-Kruse Flexner mitagglutiniert wurde, daß also alle 3 Röhrchen einen positiven Befund darboten, trotzdem meistens in den Stuhlproben nur der eine Typus, Shiga-Kruse, nachgewiesen wurde. Umgekehrt konnten wir in den Fällen, bei denen der Nachweis des Flexner- oder Y-Typus als Infektionserreger erbracht war, niemals eine Mitagglutination des Shiga-Kruse-Bacillus beobachten.

Die hohe Mitbeeinflussung des Flexner-Bacillus veranlaßte mich, die Grenzwerte der Agglutinationsfähigkeit der Krankensera für alle drei Typen des Ruhrbacillus festzustellen. Dieser Untersuchung unterzog ich 8 Sera von Patienten, in deren Stuhlproben der positive Befund von Shiga-Kruse-Bacillen erhoben worden war. Von diesen Blutproben waren 5 in der 2. Krankheitswoche, die übrigen 3 in der 3. Krankheitswoche entnommen. Die Methode der Verdünnung des Serums und der Eintragung der Bacillen wurde in gleicher Weise, wie oben beschrieben, angewandt, und zwar beschränkte ich mich nicht auf eine einmalige Bestimmung des Endtiters, um eine Gewähr für einwandfreie Resultate zu erhalten. Von dem Ergebnisse der Untersuchung gibt Tabelle I ein Bild.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß durch alle 8 Sera die Flexnerschen und Y-Bacillen mitagglutiniert wurden. Die Stärke der Mitagglutination hält sich bei beiden ungefähr die Wage, da sie, wie ich früher erwähnte, in ihrem Rezeptorenapparat sehr große Uebereinstimmung zeigen. In 4 Fällen wurde der Shiga-Kruse-Bacillus in wenn auch nur wenig stärkeren Verdünnungen als Flexner und Y beeinflußt, in den anderen Fällen aber war die Agglutination der Flexner- und Y-Bacillen, zum Teil beträchtlich höher als die des Shiga-Kruse-Stammes; in dem einen Fall (No. II) agglutinierte das Serum die beiden nicht homologen Bakterien noch bei 1 : 1000, während die Reaktion für Shiga-Kruse nur in 300-facher Verdünnung ein schwach positives Resultat ergab.

Diese enorme Stärke der Wirkung gegenüber Flexner und Y ließ den Gedanken aufkommen, daß es sich in diesen Fällen wohl nicht um eine einfache Mitagglutination, sondern um eine Mischinfektion handeln müsse. Findet man doch in der Literatur mehrfach Aufzeichnungen darüber, daß bei ein und demselben Kranken verschiedene Typen des Ruhrbacillus in dem Stuhl gefunden wurden. Wir richteten deshalb bei den Nachuntersuchungen dieser 8 Patienten unser Augenmerk auf das Vorhandensein von Flexner und Y in den Stuhlproben, konnten aber niemals außer dem Kruse-Bacillus einen anderen Typus feststellen. Um uns aber zu versichern, daß uns bei diesen Stuhluntersuchungen unter vielen in den ersten Tagen gleich aussehenden Kolonieen nicht ein Flexner- oder Y-Bacillus doch noch entschlüpft sei, benutzte ich die von Castellani angegebene Methode der Absättigung des Blutes, um die Diagnose „Mitagglutination" erhärten zu können.

Castellani (54) unterzog die Agglutinationsverhältnisse bei Mischinfektionen einer genaueren Untersuchung und fand dabei für die Diagnose gut zu verwertende Resultate. Er verrieb in dem zu prüfen-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

No. der Kranken	Orientierende Agglutination	Stamm	Serumverdünnungen 1:100	1:200	1:300	1:400	1:500	1:600	1:700	1:800	1:900	1:1000	NaCl
I	Kr. 1:50 ++	Kr.	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	1:80 ++	Fl.	+〈 Kr.	+〈 Kr.	±	—	—	—	—	—	—	—	—
	Fl. 1:100 +	Y[1])	+〈 Kr. u. Fl.	+〈 Kr. u. F.	±〈 Fl.	—	—	—	—	—	—	—	—
II	Kr. 1:50 +	Kr.	+	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
	1:80 +	Fl.	+++	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	—
	Fl. 1:100 ++	Y	+++	+++	++	++	+	+	+	+	+	+	—
III	Kr. 1:50 +	Kr.	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
	1:80 +	Fl.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Fl. 1:100 ±	Y	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
IV	Kr. 1:50 +	Kr.	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
	1:80 +	Fl.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Fl. 1:100 +	Y	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
V	Kr. 1:50 +	Kr.	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
	1·80 +	Fl.	++	+〉 Kr.	+〈 Kr.	±	—	—	—	—	—	—	—
	Fl. 1:100 ++	Y	+〉 Kr.	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
VI	Kr. 1:50 ++	Kr.	++	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—
	1:80 ++	Fl.	+++	++	++	+〈 Kr.	+〈 Kr.	+	+	+	+	±	—
	Fl. 1:100 ++	Y	++	+〉 Kr.	+〉 Kr.	+〉 Kr.	+〉 Kr.	+〉 Fl.	+〉 Fl.	+〉 Fl.	+〉 Fl.	+	—
VII	Kr. 1:50 ++	Kr.	++	++	+	+	+	+	+	+	+	±	—
	1:80 ++	Fl.	++	++〉 Kr.	++	++	++	++	+= Kr.	+	+	+	—
	Fl. 1:100 ++	Y	++	++=Kr.	+〉 Kr.	+〉 Kr.	+〉 Kr.	+= Kr.	+= Kr.	+	+	+	—
VIII	Kr. 1:50 +	Kr.	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
	1:80 +	Fl.	1:40 +	1:60 +	1:80 —	1:100 —	—	—	—	—	—	—	—
	Fl. 1:100 —	Y	1:40 +	1:60 +	1:80 +	1:100 +	1:200 +	1:300 ±	1:400 ±	1:500 —	—	—	—

Anm.: — bedeutet negative, + positive, ++ starke, +++ sehr starke, ± schwache Agglutination. 〉 Kr. = stärker als Kruse, 〈 Kr. = schwächer als Kruse.

den Serum, das Typhus- und Coli-Bacillen agglutinierte, so viel Kulturmengen der einen Bakterienart, bis keine Agglutinationswirkung auf diese Bacillen mehr resultierte, und prüfte dann, ob in diesem Serum noch Agglutination der anderen Bakterienart zustande kam. War der Versuch mit einem Typhusserum angestellt worden, das außer den Typhusbacillen auch Coli-Bacillen agglutinierte, so wurden durch die Eintragung von Typhusbacillen in das Serum nicht allein die Agglutinine für diese, sondern auch diejenigen für die Coli-Bacillen entfernt, während durch Absättigung mit Coli-Bacillen nur der Agglutinationswert für Coli-, nicht aber für Typhusbacillen verschwand. Ging dem Serum demnach mit dem Verschwinden des Agglutinationsvermögens für die Typhusstäbchen auch das für die Coli-Bacillen verloren, so mußte man die vorher vorhandene Beeinflussung der letzteren durch das Serum als Mitagglutination betrachten. Hätte dagegen das mit Typhusbacillen abgesättigte Serum noch eine Agglutinationswirkung auf Coli-Bacillen ausgeübt, so mußte man den Schluß daraus ziehen, daß eine gemischte Infektion vorlag.

1) Dieser Bacillus wurde aus dem Stuhl eines Ruhrkranken isoliert und durch Aussaat auf Mannit- und Maltose-Lackmusagarplatten als Y-Bacillus identifiziert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diese Beobachtungen von Castellani, die unterdessen durch Nachprüfungen von verschiedener Seite bestätigt worden sind, machte ich zum Gegenstand meiner weiteren Untersuchungen mit den 8 Krankenseren. Technisch ging ich bei diesen Versuchen in folgender Weise vor:

Zunächst stellte ich mir nach der oben beschriebenen Methode von dem zu prüfenden Serum eine Verdünnung von 1:100 mit physiologischer Kochsalzlösung her. Von dieser Verdünnung gab ich in vier kleine sterile Reagenzgläschen (1a, 1b, 2a und 2b) je eine Menge von 3 ccm. Im Röhrchen 1a verrieb ich größere Mengen einer 24-stündigen Agarkultur des Shiga-Kruse-Bacillus, bis die Flüssigkeit ein vollständig homogenes Aussehen zeigte, in Röhrchen 2a trug ich in gleicher Weise zur Hälfte Flexner-, zur anderen Hälfte Y-Kulturen ein. In die Röhrchen 1b und 2b wurden keine Bacillen eingesät, sie dienten späterhin als doppelte Kontrolle. Hierauf wurden alle 4 Reagenzgläschen einer Bebrütung bei 37° ausgesetzt.

Die Menge der Agarkulturen, welche in die Röhrchen hineingebracht wurde, war bei den einzelnen Seren sehr verschieden. War bei einem Serum, wie z. B. No. VI und VII, die zu orientierenden Zwecken angestellte Reaktion stark positiv ausgefallen, so bedurfte es einer weit größeren Menge von Bakterien, um eine völlige Absättigung des Serums zu erreichen als bei Seren, die nur relativ wenig Agglutinine enthielten. Die nötigen Kulturmengen schwankten dementsprechend zwischen 8 bis 10 Oesen und 2 bis 3 ganzen Kulturen von Schrägagarröhrchen. Daraus ergab sich die Notwendigkeit, diese Versuche mit den einzelnen Seren des öfteren vorzunehmen, zeigte sich doch nachher häufig, daß die eingeimpften Bakterienmengen nicht zur völligen Absättigung der Agglutinine ausgereicht hatten.

Nach 6-stündigem Verweilen bei 37° wurden die 4 Röhrchen in den Eisschrank gebracht, in welchem sie zwecks Sedimentierung der zusammengeballten Bakterien bis zum nächsten Tage gehalten wurden. Das Serum stand dann klar über den zu Boden gesunkenen Bacillen. Zeigte sich aber trotzdem noch eine leichte Trübung, so wurde die Klärung durch kurzes Zentrifugieren bald erreicht. Nun erfolgte die gleichmäßige Verteilung der in jedem der 4 Röhrchen befindlichen klaren Flüssigkeit auf je drei weitere sterile Reagenzgläschen. Man erhielt auf diese Weise 3 Röhrchen mit je 1 ccm mit Kruse-Bacillen abgesättigten Serums, dazu 3 Röhrchen mit je 1 ccm unbeimpften Serums, weiter 3 Röhrchen, die mit Flexner- und Y-Bacillen abgesättigtes Serum enthielten, dazu ebenfalls 3 Kontrollröhrchen.

Der Fortgang des Versuches gestaltete sich nun dermaßen, daß ich in jedem ersten Röhrchen dieser 4 Gruppen eine Oese voll Shiga-Kruse-Bacillen, in jedem zweiten eine gleiche Menge von Flexner- und in jedem dritten ebensoviel Y-Bacillen fein verrieb. Nach wiederum 6-stündigem Aufenthalte im Brutschranke geschah die Notierung des Ausfalls der Agglutinationen, die Röhrchen wurden dann noch bis zum folgenden Tage bei 37° gehalten, um eventuelle Aenderungen in den schon gefundenen Resultaten berücksichtigen zu können. In der Tabelle II habe ich die Ergebnisse der Reaktionen zusammengestellt.

Bei allen 8 Seren konnte ich danach den Befund erheben, daß durch die Absättigung mit dem Shiga-Kruse-Bacillus nicht nur die Agglutinine für dieses Bakterium aus dem Serum entfernt wurden, sondern auch das Agglutinationsvermögen für die Flexnerschen und Y-Bacillen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Serum	eingetragen	nach Absättig. mit Kruse	Kontrolle	nach Absättig. m. Flexner u. Y	Kontrolle
No. I 1:100	Kr.	—	+	+	+
	Fl.	—	+	—	+
	Y	—	+	—	+
No. II 1:100	Kr.	—	+	±	+
	Fl.	—	++	—	++
	Y	—	++	—	++
No. III 1:100	Kr.	—	+	+	+
	Fl.	—	+	—	+
	Y	—	+	—	+
No. IV 1:100	Kr.	—	++	++	++
	Fl.	—	+	—	+
	Y	—	+	—	+
No. V 1:100	Kr.	—	++	++	++
	Fl.	—	+	—	+
	Y	—	+	—	+
No. VI 1:100	Kr.	±	++	++	++
	Fl.	—	++	—	++
	Y	—	++	—	++
No. VII 1:100	Kr.	—	++	++	++
	Fl.	—	++	—	++
	Y	—	++	—	++
No. VIII 1:100	Kr.	±	+	+	+
	Fl.	—	+	—	+
	Y	—	+	—	+

vollständig verloren ging, während im umgekehrten Falle, bei Absättigung mit Flexner- und Y-Bacillen, die Agglutinine für Shiga-Kruse ihre volle Wirkung behielten.

Es ist dieses Phänomen daher eine Bestätigung der negativen Befunde von Flexner- und Y-Bacillen in den Stuhlproben, und man muß die vorhandene Mitbeeinflussung dieser Bacillen durch das Krankenserum, trotzdem sie zum Teil höhere Werte als die Agglutination der eigentlichen Infektionserreger erreichte, als eine Mitagglutination auffassen und das Bestehen einer Mischinfektion in den beschriebenen Fällen verneinen.

Anderen Ortes sind gleiche Beobachtungen, daß bei Gruppenagglutinationen der Titer für den betreffenden Infektionserreger niedriger ist als derjenige der mitagglutinierten Bakterien, häufiger gemacht worden. Schon Stern (55) und Bieberstein (56) machten die Erfahrung, daß ein Typhuskrankenserum manchmal höhere Agglutinationswerte für Coli- als für Typhusbacillen aufweist. Von derselben Erscheinung in bezug auf Typhus- und Paratyphusbacillen konnte Brion (57), v. Drigalski (58) und Jürgens (59) berichten. Letzterer hat in diesen Fällen analog meine soeben beschriebenen Versuche mit Ruhrkrankenserum die Absättigungsmethode angewandt und dadurch den Nachweis des Bestehens einer Mitagglutination von Paratyphusbacillen erbracht. Er ging hierbei nicht bis zur völligen Absättigung der Seren Typhuskranker, sondern beschränkte sich darauf, ihre Agglutinationskraft durch Einimpfung von 1—2 Oesen Typhusbacillen zu schwächen und dann ein Sinken des Serumtiters auch für Paratyphusbacillen nachzuweisen. Bruns und Kayser (60) betonen, daß zur Identifizierung der Krankheitserreger, wenn sich die Agglutinationsmaxima für Typhus

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Paratyphus beträchtlich nähern, der Castellanische Versuch notwendig ist. Conradi (61) warnt vor der fälschlichen Annahme, daß der Krankheitserreger stets die maximale Serumreaktion auslöse.

In Anbetracht dessen, daß manchmal in annähernd gleichhohen Verdünnungen bei Typhuserkrankungen Mitagglutination von Paratyphusbacillen, und umgekehrt: bei Paratyphusinfektionen Mitagglutination von Typhusbacillen auftritt, kann nur der Castellanische Absättigungsversuch die Frage entscheiden, welcher von beiden Bacillen als Krankheitserreger angesehen werden muß. Anders liegt der Fall bei der bacillären Ruhr. Hier handelt es sich fast nur um Mitagglutinationen von Flexner- und Y-Bacillen bei Infektionen durch den Bacillus Shiga-Kruse, eine Mitbeeinflussung des letzteren bei Flexner- und Y-Erkrankungen ist nur ganz vereinzelt und auch dann nur in so geringen Werten gefunden worden, daß ihr für die Diagnosenstellung keine Bedeutung zuzuschreiben ist.

Ich kann mich deshalb der Ansicht von Lentz (21) nicht anschließen, wenn er behauptet, der höchste Titer des Krankenserums bei Ruhr entspräche stets dem tatsächlichen Krankheitserreger. Die hier beschriebenen Versuche lassen nur den Schluß zu, daß Agglutinationen des Flexner- und Y-Bacillus, auch wenn ihre Werte höher als diejenigen des Shiga-Kruse-Bacillus sind, doch nur als Mitagglutinationen angesprochen werden müssen. Wir können daher eine Agglutination von Flexner in einer Verdünnung von 1 : 100 bei gleichzeitiger Agglutination von Shiga-Kruse in Verdünnungen von 1 : 50 und 1 : 80 außer acht lassen und müssen in letzterem den Infektionserreger sehen — vorausgesetzt natürlich, daß keine Mischinfektion vorliegt — während naturgemäß eine Agglutination von Flexner resp. Y (1 : 100) allein, ohne gleichzeitige Agglutination von Shiga-Kruse, wohl als beweisend für eine Infektion mit diesem Bakterium anzusehen ist.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Bruns für die Anregung zur Arbeit und Herrn Dr. Hohn für die liebenswürdige Ueberlassung derselben und die dabei freundlichst gewährte Unterstützung an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) Veröffentl. a. d. Gebiete d. Milit.-Sanitätswes. 1910.
2) Fischer, Hohn u. Stade, Klin. Jahrb. Bd. 23. 1910.
3) Hetsch, Klin. Jahrb. Bd. 12. 1904.
4) Kruse, Dtsche med. Wochenschr. 1901. No. 23 u. 24.
5) Lentz, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. 2. 1903.
6) —, Klin. Jahrb. Bd. 17. 1907.
7) Dörr, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. H. 4 u. 5.
8) Luksch, Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 28; ref. Baumgartens Jahresber. 1906.
9) Eckert, Dtsche militärärztl. Zeitschr. Bd. 35. 1906. H. 7.
10) Vaillard, L. et Dopter, Ch., Ann. de l'Institut Pasteur. 1903. No. 7, ref. Hyg. Rundsch. 1904. No. 7.
11) Rosenthal, L., Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 6.
12) Shiga, Dtsche med. Wochenschr. 1901. No. 43.
13) Jürgens, Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 46.
14) Lüdke, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. H. 1.
15) —, Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 5.
16) Kruse, Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 8/9.
17) Lösener, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. H. 3.
18) Heuser, Dtsche med. Wochenschr. 1909. No. 39.
19) Birt, Lancet. p. 904; ref. Baumgartens Jahresber. 1906.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

20) Foulerton, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 31.
21) Lentz, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Erg-Bd. 2. H. 3. 1909.
22) Kruse, Dtsche med. Wochenschr. 1900. No. 40.
23) Küster, Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 35.
24) Flexner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 28. 1900. No. 19.
25) Chantemesse, La sem. méd. 1906; ref. Hyg. Rundsch. 1907. No. 20.
26) Korentschewski, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 37. No. 7.
27) Vedder u. Duval, ebenda. Bd. 31.
28) Dörr, ebenda. Bd. 34. H. 5.
29) Negri u. Pane, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 41. H. 1.
30) Bofinger, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 10. H. 14; ref. Hyg. Rundsch. 1907. No. 8.
31) Lehmann u. Neumann, Lehmanns med. Handatlanten. Bd. 10. Teil II.
32) Kruse, Dtsche Aerzte-Ztg. H. 2; ref. Baumgartens Jahresber. 1902.
33) Conradi, Aus d. Festschr. z. 60. Geburtstag. v. Rob. Koch. Jena 1903; ref. Hyg. Rundsch. 1905. No. 8.
34) Jürgens, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 51. H. 5 u. 6; ref. Hyg. Rundsch. 1905. No. 22.
35) Martini u. Lentz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 41. 1902. H. 3.
36) Kolle u. Hetsch, Die experimentelle Bakteriol. und die Infektionskrankheiten. 2. Aufl. 1908.
37) Shiga, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 41.
38) Lentz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 43. 1903.
39) Di Donna, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. H. 8.
40) Eisenberg, Ph., Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 43; ref. Baumgartens Jahresber. 1904.
41) Haendel, Arbeit. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 28. 1909. H. 2.
42) Kruse, Rittershaus, Kemp u. Metz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 57.
43) Danti de Blasi, Centralbl. f. Bakt Abt. I. Orig. Bd. 36. H. 2.
44) Amako, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 60. 1908.
45) Liefmann u. Nieter, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 43.
46) Müller, Th., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 31. 1902. H. 12.
47) Jehle, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 62. H. 4; ref. Hyg. Rundsch. 1906. No. 22.
48) Jehle u. Charleton, Zeitschr. f. Heilk.; ref. Hyg. Rundsch. 1906. H. 14.
49) Auché, B., ref. Baumgartens Jahresber. 1905.
50) Auché, B. et Campana, R., ref. Baumgartens Jahresber. 1905.
51) Pilsbury, L. B., ref. Baumgartens Jahresber. 1903.
52) Shiga, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23.
53) Lim, N. F., Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 44.
54) Castellani, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 40. 1902.
55) Stern, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23. No. 16.
56) Bieberstein, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 27. 1898.
57) Brion, Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 22.
58) v. Drigalski, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35.
59) Jürgens, Zeitschr. f. Hyg. Bd 43. 1903.
60) Bruns u. Kaiser, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 43. 1903.
61) Conradi, Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 32.

Nachdruck verboten.

Die Präzipitindiagnose bei Milzbrand.

[Serotherapeutisches Institut der Klinischen Hochschule in Mailand (Direktor: Prof. S. Belfanti).]

Von Dr. **Alberto Ascoli,**

Privatdozenten für Hygiene und Seuchenlehre an der Tierärztl. Hochschule in Mailand und für physiologische Chemie an der Universität in Pavia.

Mit 2 Figuren.

Die Milzbranddiagnose ist zwar, wenn man von wenigen Ausnahmefällen bei bestimmten Tierarten (Mensch, Pferd) absieht, vom therapeutischen Standpunkte aus von untergeordneter Bedeutung, hingegen für

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Anordnung und die Durchführung der Bekämpfungsmaßregeln äußerst wertvoll. In gewissen Ländern, z. B. in Deutschland, ist eine Sicherstellung der Diagnose auch aus dem Grunde erwünscht, weil das Reichsviehseuchengesetz für Rinder und Pferde, die an Milzbrand (oder Rauschbrand) gefallen sind, oder an denen nach dem Tode eine dieser Krankheiten festgestellt worden ist, eine Entschädigung gewährt (§ 66.)

Gerade bei der an den bakteriologischen Untersuchungsämtern stattfindenden Kontrolle der Diagnose treten die Schwierigkeiten besonders augenfällig zutage, gegen die oft eine solche Nachprüfung zu kämpfen hat. So leicht nämlich durch Oeffnung des Kadavers und sofort anzuschließende mikroskopische Prüfung der bloße Verdacht zur Sicherheit wird, um so schwieriger gestaltet sich oft der bakteriologische Nachweis, je später ein solcher versucht wird, d. h. je weiter die Fäulnis des zu untersuchenden Materials vorgeschritten ist. Trotz der zwecks Entnahme und Verschickung des verdächtigen Materials ausgearbeiteten und vielfach geübten Methoden (Seidenfäden nach Heim, Straßburger Gipsstäbchenmethode) ist die Nachprüfung in etwa 20 Proz. der Fälle nicht imstande, die vom Tierarzte vertretene Anschauung zu bestätigen, und zwar nicht nur in Fällen, bei denen bloß der klinische Verlauf und die sonstigen Verdachtsgründe vorlagen, sondern auch bei durch den Obduktionsbefund und die mikroskopische Prüfung begründeten Diagnosen.

So unanfechtbar der positive Ausfall der bakteriologischen Nachprüfung beim Milzbrand ist, ebensowenig kann ein negativer Befund an nicht mehr frischem Material dazu dienen, einen bestehenden Verdacht zu verneinen.

Sehr lehrreich ist in dieser Beziehung ein in den preußischen Jahres-Veterinärberichten erwähnter Fall, in dem irrtümlicherweise 2 Stücke desselben milzbrandverdächtigen Materials an zwei aufeinanderfolgenden Tagen zur bakteriologischen Nachprüfung eingesandt wurden; die Untersuchung ergab an der frischeren Probe ein positives, an der um 24 Stunden älteren ein negatives Resultat.

Diesem Uebelstande kann nur in der Weise gesteuert werden, daß an der Stelle des bisher mit den üblichen Hilfsmitteln angestrebten Nachweises der wenig haltbaren Milzbrandbacillen resp. der von anderen Keimen leicht überwucherten Sporen eine serodiagnostische Methode tritt, die die spezifischen Bestandteile der Bakterienleiber zu entdecken vermag. Da ja das Scheitern der gewöhnlich geübten Verfahren hauptsächlich auf das massenhafte Zugrundegehen der Milzbrandbacillen infolge ihrer Auflösung zurückzuführen ist, hat folgerichtig gerade an dem unseren Züchtungsversuchen spottenden Material der Nachweis der bei der Lyse frei werdenden Produkte Aussicht auf Erfolg. Zur Entdeckung solcher Substanzen wären demnach die zur Agnoszierung von Antigenen dienenden Reaktionen heranzuziehen. An Versuchen in dieser Richtung wird es wahrscheinlich nicht gefehlt haben, da eine Uebertragung der z. B. zur Blutdifferenzierung mit so großem Erfolge verwendeten Verfahren mehr als einem Forscher vorgeschwebt haben dürfte. Nichts wäre ja naheliegender, als mittels der Präzipitinreaktion das spezifische Eiweiß der Milzbrandbakterien in ähnlicher Weise zu unterscheiden, wie schon die Unterscheidung der Eiweißarten von Blutflecken geübt wird. Dazu bedarf es jedoch eines präzipitierenden Antiserums, und es dürften wohl die diesbezüglichen Versuche insgesamt daran gescheitert sein, daß in dem Milzbrandserum kein Präzipitin gefunden wurde.

Die daraus erwachsende Schwierigkeit ist nun überwunden, seitdem wir in Gemeinschaft mit Dr. Valenti nachweisen konnten, daß es Milz-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

brandsera gibt, die ein hervorragendes präzipitierendes Vermögen auf Milzbrandextrakte ausüben.

Schon andere Forscher (Bail, Carini, Gruber und Futaki) sind zwar vor uns auf solch ein präzipitierendes Serum gestoßen, doch hat keiner von ihnen den glücklichen Umstand zu verwerten gewußt. Solche Sera trifft man nur ausnahmsweise: Unter über 40 daraufhin untersuchten Milzbrandseris (vom Esel, Pferd, Maultier und Schaf) zeigten bloß 9 ein deutliches Präzipitierungsvermögen. Es scheinen bei der Präzipitinbildung individuelle Verschiedenheiten obzuwalten, denn bei gleichzeitiger Immunisierung von Pferd, Esel, Kuh und Schaf lieferte uns trotz des sonst gleichartigen Verfahrens bloß ein Pferd ein gutes Präzipitin, während beim Esel und bei der Kuh nur vorübergehend ein leichtes Präzipitierungsvermögen auftrat; beim Schaf verschwand die nach Einspritzung mittlerer Mengen beobachtete Präzipitinwirkung bei den weiteren Immunisierungsversuchen wieder vollständig. Ob gewisse Tierarten (Esel, Maulesel) einen größeren Prozentsatz von präzipitierenden Seris liefern, muß vorderhand dahingestellt bleiben. Die näheren Details über die Gewinnung von gut präzipitierendem Milzbrandserum sind aus untenstehender Tabelle zu entnehmen:

Tabelle I.

Datum	Injektion	Einführungsart	Untersuchung auf Präzipitinbildung	Bemerkungen
25. 7.	$^1/_4$ ccm I. Impfstoff Ball. No. 186	subkutan	negativ	
27. 7.	1 Oese I. Impfstoff	„	—	
30. 7.	$^1/_3$ Agarkultur I. Impfstoff	„	—	
13. 8.	$^1/_{10}$ Oese Milzbrandkultur C.	„	—	
16. 8.	$^1/_3$ „ „ „	„	—	
18. 8.	1 „ „ „	„	—	
20. 8.	$^1/_3$ Milzbrandkultur C auf Agar	„	—	
23. 8.	$^2/_3$ „ „ „ „	„	—	
27. 8.	1 „ „ „ „	„	—	
1. 9.	2 „ „ „ „	„	—	
9. 9.	1 Platte Milzbrandkultur V.	„	negativ	
20. 9.	—	—	„	
26. 9.	2 Platten Milzbrandkultur V.	subkutan	—	
30. 9.	—	—	—	Bildung und Oeffnung eines Eiterherdes an der Injektionsstelle
4. 10.	1 Platte C + 1 Platte V. gemischt	intravenös	—	
8. 10.	—	—	negativ	
11. 10.	2 Platten C + 2 Platten V. gemischt	subkut. u. intrav.	—	
19. 10.	—	—	positiv	Blutentnahme 6 L
20. 10.	—	—	„	
24. 10.	—	—	„	
31. 10.	—	—	„	Entblutung Wertbestimmung: 3 Meerschw. 0; 1 Meerschw. +; Kontrolle +

Zu weniger günstigen Resultaten führten die Immunisierungsversuche mit großen Kulturmengen an Kaninchen, so daß wir von deren Mitteilung füglich Abstand nehmen können. Auch nach Einspritzung von Milzbrandextrakten konnten bei Kaninchen und Schafen Präzipitine beobachtet werden, die darauf hinweisen, daß die löslichen Bestandteile der Bacillenleiber als Antigene dienen können. Zu diagnostischen Zwecken eignen sich aber ausschließlich hochwirksame Sera.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ein gutes Präzipitin ruft in den Auszügen der 35 geprüften echten Milzbrandstämme ausnahmslos eine Niederschlagsbildung hervor, während in den Extrakten von dem Milzbrande fernestehenden Keimen (Vibrio cholerae asiaticae, Bacterium coli, Bacillus typhi, dysenteriae, mesentericus, pyocyaneus, subtilis, rusiopathiae suis, mallei, oedematis maligni, sarcoemphysematis bovis, septicaemiae haemorrhagicae, Staphylo- und Streptococcus etc.) keine Fällung entsteht. Obgleich hingegen milzbrandähnliche Keime mit dem Serum mehr oder weniger deutlich reagieren, kann die Präzipitinreaktion vom praktischen Standpunkte insofern als absolut spezifisch gelten, weil sie bei Innehaltung bestimmter Bedingungen an Extrakten von sicher milzbrandigem Material fast ausnahmslos positiv, an solchen von sicher nicht milzbrandigem Material in der Regel negativ ausfällt. In einem einzigen Falle wurde mit einer Milz, die vom Tierarzte als nicht milzbrandig angesehen worden war, ein positives Resultat erzielt, welches auf einen aus der Milz gezüchteten, milzbrandähnlichen Keim zurückgeführt werden konnte, da auch die Extrakte der angelegten Agarkulturen mit dem präzipitierenden Serum reagierten. Man kann also die Möglichkeit nicht von der Hand weisen, daß in Ausnahmefällen derartige Keime eine positive Reaktion vortäuschen können. Tatsächlich haben wir aber bisher bei sicher nicht milzbrandigem Material keine positive Reaktion zu verzeichnen; es ist demnach anzunehmen, daß von den Keimen, deren Auszüge fällbare Substanzen enthalten, in der Regel bloß der Milzbrandbacillus in solcher Anzahl und unter solchen Verhältnissen in die Organe einzudringen vermag, daß die Leibessubstanz dem Nachweis mit der Präzipitinmethode zugänglich ist. Die Präzipitinreaktion vermag die Anwesenheit milzbrandigen Protoplasmas in den verschiedenen Organen (Milz, Lunge, Leber, Niere, Nebenniere, Darm), im Blute, in der Oedemflüssigkeit, in den Ergüssen sowohl bei natürlicher als auch bei künstlicher Infektion anzuzeigen; gleichgültig ist dabei sowohl der Konservierungszustand als auch die Tierart, von der das Material herrührt, ob Rind, Schaf, Pferd, Esel, Meerschweinchen, Kaninchen.

In der Tat beeinträchtigt die Fäulnis, welche bei der bakteriologischen Prüfung so störend wirkt, nicht im geringsten die Präzipitinreaktion, sondern es fällt dieselbe an verfaultem Material noch über ein Jahr nach der Entnahme positiv aus. Aus den an mehr als 100 Tieren, bei denen die Diagnose Milzbrand nach den üblichen Methoden sichergestellt war, angestellten Untersuchungen geht hervor, daß die Reaktion nicht nur an frischem, sondern auch an verfaultem Material gelingt, bei dem die bakteriologische Prüfung versagt; die Milz, welche mit Vorliebe zur Untersuchung herangezogen wird, gab trotz der Fäulnis noch nach 16 Monaten ein positives Ergebnis. Bloß bei 2 Milzproben, die von einem subkutan infizierten Esel resp. Meerschweinchen stammten, ließ uns die Reaktion im Stich, doch gab uns die mikroskopische Untersuchung Aufschluß über den Mißerfolg, insofern in der Milz ein abnorm niedriger Gehalt an Keimen festgestellt wurde; zu dieser Deutung fühlen wir uns um so mehr berechtigt, als beim Esel das Blut, welches mehr Bacillen enthielt, eine positive Reaktion gab.

Es hängt nämlich die Stärke der Reaktion in erster Linie von der in den Organen ursprünglich vorhandenen Zahl der Milzbrandbacillen ab. Dementsprechend wurden mit der Milz von an natürlichem Milzbrand eingegangenen Rindern durchgehend positive Resultate erzielt, weil in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Regel die Rindermilz bacillenreicher ist, als die Milz von Meerschweinchen; deshalb fällt die Reaktion bei ersterer mit höheren Verdünnungen der Extrakte positiv aus, als bei letzterer.

Die zahlreichen Kontrollversuche, welche an frischen und verfaulten Milzen von sicher nicht milzbrandigen Tieren derselben Tierarten angestellt wurden, von denen das milzbrandige Material herrührte, gaben ausnahmslos negative Resultate, gleichgültig, ob die zur Untersuchung herangezogenen Stücke von gesunden oder an verschiedenartigen Infektionen (Diphtherie, Tuberkulose, hämorrhagische Septikämie, Cholera, Meningitis, Lungenentzündung, Lyssa, Hundestaupe, malignes Oedem, Rauschbrand) zugrunde gegangenen Tieren stammten. Der gleichfalls negative Ausfall der Reaktion am Muskelfleisch bei natürlichem Rauschbrand könnte in zweifelhaften Fällen zur Differentialdiagnose zwischen Milzbrand und Rauschbrand verwertet werden.

Um die Reaktion anstellen zu können, ist es vor allem unerläßlich, über ein hochwertiges Präzipitin zu verfügen. Zur Titerbestimmung eignet sich jedoch nicht die für Antieiweißsera geübte Verdünnungsmethode, da die als Ausgangspunkt dienenden Bakterienextrakte je nach dem mehr oder weniger üppigen Wachstum, dem Alter der Kultur, dem Verhältnisse zwischen Milzbrandbakterien und Sporen, dem Extraktionsmittel und der Temperatur eine schwankende Konzentration aufweisen.

Wenn die Extrakte in der unten näher beschriebenen Weise bei Zimmertemperatur mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt wurden, lag die oberste Grenze für die Ringprobe bei einer Verdünnung der Auszüge bis 1 : 200; wurden aber stark konzentrierte Extrakte herangezogen, so verschob sich für ein und dasselbe Serum der Grenzwert auf 1 : 5000—1 : 10000. Es ist deshalb von einer genauen Titerbestimmung füglich Abstand zu nehmen, und es sind für die Präzipitinreaktion ausschließlich solche Milzbrandsera zuzuziehen, welche bei Anstellung der Schichtprobe eine sofortige Trübung an der Berührungsfläche zwischen Milzbrandextrakt und Serum bewirken. Das Serum soll mit 2 Extrakten in physiologischer Kochsalzlösung, von denen das eine aus einer Milzbrandkultur auf Agar, das andere aus einer milzbrandigen Milz hergestellt ist, auf seine Wirksamkeit geprüft werden. Diese Extrakte, deren nähere Herstellungsweise weiter unten beschrieben wird, sollen mit dem spezifischen Immunserum sofort die für die Schichtprobe charakteristische ringförmige Trübung geben, hingegen mit dem entsprechenden Normalserum wenigstens $^1/_4$ Stunde lang vollkommen klar bleiben. Diese Kontrollprobe darf nicht unterbleiben, weil die Extrakte, welche in der Regel sowohl mit normalem, als auch mit Immunserum (Diphtherie-, Tetanus-, Dysenterie-, Pneumokokken-, Typhus-, Coli-, Rotlauf-, Druseserum) vollkommen klar bleiben, ausnahmsweise, wenn sie zu stark konzentriert sind, namentlich mit frischem Serum eine ringförmige Trübung geben können. Durch entsprechende Verdünnung oder Herstellung eines Extraktes von normaler Konzentration wird diesem Uebelstande, der schon Bail irregeführt hat, abgeholfen; aber gerade wegen dieser Fehlerquelle ist die Kontrollprobe mit Normalserum unerläßlich.

Zur Herstellung der zur Prüfung des Serums dienenden Extrakte braucht man eine 24-stündige üppige Milzbrandkultur auf Schrägagar und die Milz eines an Milzbrand eingegangenen Tieres (z. B. eines Meerschweinchens). Den Bakterienextrakt stellt man in der Weise her, daß man die Kulturmasse in 5—10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmt und nach 2-stündiger Extraktion bei Zimmertemperatur filtriert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zur Bereitung des Milzauszuges werden 2—3 g der fein zerriebenen Pulpa zwecks Entfärbung mit 10 ccm Chloroform durchmengt und etwa 5 Stunden lang bei Zimmertemperatur in Berührung gelassen; nach Dekantierung des überschüssigen, d. h. nicht verdampften oder absorbierten Chloroforms wird der Brei mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung extrahiert und nach 2 Stunden filtriert. Beide Extrakte sollen tunlichst schwach gefärbt und vollkommen klar sein; die Aufhellung ist mittels Filtrierung durch Papier, Asbest- oder Berkefeld-Filter leicht zu erreichen. Sowohl das Immun- als auch das Normalserum sind auf gleiche Weise oder durch Zentrifugieren zu klären.

Fig. 1.

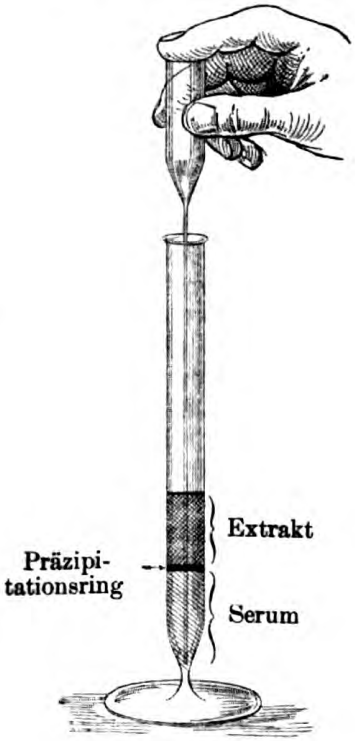


Fig. 2.

Nunmehr kann an die Ausführung der Probe geschritten werden, indem man jedes der beiden Extrakte einerseits mit Immunserum, andererseits mit Normalserum unterschichtet. Ein Milzbrandserum ist nur dann als zweckentsprechend anzusehen, wenn die Schichtprobe mit Immunserum sofort positiv ausfällt, mit Normalserum nach 15 Minuten bei Zimmertemperatur noch negativ ist. Mit einem derartig kontrollierten Serum gestaltet sich die Untersuchung verdächtigen Materials höchst einfach; es wird in der beschriebenen Weise ein möglichst farbloses und vollkommen klares Extrakt hergestellt und dasselbe mit Immun- und Normalserum unterschichtet. Der Ausfall der Probe wird genau so beurteilt, wie oben angegeben, d. h. bei Auftreten der ringförmigen Trübung bloß mit Immunserum als positiv, bei Ausbleiben jeder Trübung in beiden Röhrchen als negativ angesprochen. In Ausnahmsfällen, wenn im Material milzbrandähnliche, mit dem Präzipitin reagierende Keime enthalten sein sollten, kann trotzdem durch entsprechende Verdünnung der Extrakte

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine Entscheidung getroffen werden, weil die Reaktion mit milzbrandigem Material bei 1:10—50—100 noch positiv ausfällt, mit nicht milzbrandigem hingegen ausnahmslos negativ.

Für den praktischen Tierarzt ist jedoch das Verfahren in dieser Form zu umständlich und auf die Hauptreaktion zu beschränken, zumal bei dem frischen Material die Fehlerquellen, gegen die der Bakteriologe anzukämpfen hat, wegfallen. Die Untersuchungsstationen sollen dafür Sorge tragen, daß dem Tierarzte jederzeit ein hochwirksames, kontrolliertes, klares Serum zur Verfügung steht. Außerdem wären ihm ein besonderes Asbestfilter (siehe Fig. 1) zur Klärung des Extraktes, ein mit Fußgestell versehenes Reagensröhrchen und ein Paar Pasteursche Pipetten zu liefern (siehe Fig. 2). Mit Hilfe dieser leicht herstellbaren Glassachen kann die Reaktion von jedermann ausgeführt werden, da die Reagentien, Chloroform und physiologische Kochsalzlösung, ein Porzellanmörser, ein Reagensröhrchen, ein Glastrichter, ein Papierfilter vom Apotheker zu beschaffen sind.

Zur Ausführung der Präzipitinprobe hat man bloß 1—2 g Milzpulpa, resp. des zur Untersuchung dienenden milzbrandigen Materials zu nehmen, im Mörser zu zerreiben und mit etwa 10 ccm Chloroform gut durchzurühren; nach 4—5 Stunden gießt man das überschüssige Chloroform ab, versetzt den Brei mit 5—10 ccm physiologischer Kochsalzlösung und mischt gut durch; nach ein paar Stunden filtriert man die Masse durch Papier in ein Reagensglas und klärt das Filtrat, indem man es auf das Asbestfilter gießt. Nach höchstens einer Stunde hat sich im konischen Ende des letzteren eine hinreichende Menge des klaren, zur Probe fertigen Extraktes angesammelt. Mittels einer der beiden Pasteurschen Pipetten, deren Spitze durch die Oeffnung oberhalb des konischen Bodens eingeführt wird, entnimmt man unter entsprechender Neigung des Asbestfilters wenige Tropfen des Extraktes, um sie in das mit Fußgestell versehene Reagensröhrchen zu übertragen. In die andere Pipette saugt man 5—10 Tropfen des präzipitierenden Serums ein, schließt rasch mit dem Finger das obere Ende der Pipette und schichtet das Serum langsam und vorsichtig, wie aus Fig. 2 ersichtlich, unter das Extrakt. Wenn Milzbrand vorlag, erscheint an der Berührungsfläche zwischen Serum und Extrakt eine ringförmige Trübung. Zur Abkürzung des Verfahrens kann die Extraktion des Materials vor seiner Entfärbung mit Chloroform versucht und die Klärung des Extraktes durch langsames Zentrifugieren des Asbestfilters beschleunigt werden.

Für den Praktiker eignet sich am besten folgende **Thermopräzipitinmethode,** die unter Verwertung der Thermostabilität der präzipitablen Substanz einfach und rasch zum Ziele führt: Aufschwemmung von etwas Milzpulpa in physiologischer Kochsalzlösung — Aufkochen — Filtration durch Papier — Schichtprobe (Figur 2) nach dem Erkalten.

Am besten wird es wohl sein, wenn der Tierarzt das abgekürzte Verfahren an Ort und Stelle versucht und gleichzeitig etwas Milzbrandmaterial oder Blut in einem reinen Gefäße gut verpackt zur Nachprüfung einsendet.

Wir sind fest überzeugt, daß sowohl in der Praxis, als auch im Laboratorium unsere Präzipitindiagnose Ausgezeichnetes leisten wird.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literatur.

Nevermann, Veröffentlich. a. d. Jahres-Veterinär-Ber. d. beamt. Tierärzte Preußens f. 1908. Teil I. p. 12.
Bail, O., Versuche über die Wirkungsweise des Milzbrandserums. (Folia Serolog. IV. p. 137.)
—, Untersuchungen über die natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. p. 271.)
Carini, A., Ueber die Agglutination des Milzbrandbacillus. (Dtsche med. Wochenschrift. 1904. p. 1197.)
Gruber u. Futaki, Weitere Mitteilungen über die Resistenz gegen Milzbrand. (Dtsche med. Wochenschr. 1907. p. 1588.)
Ascoli, A. u. Valenti, E., Biologische Milzbranddiagnose. (Zeitschr. f. Infektionskrankheiten der Haustiere. Bd. 7. Heft 5/6.)

Nachdruck verboten.

Kritische Betrachtungen über die Methoden des Indolnachweises in Bakterienkulturen, nebst einem Beitrage zur Frage der Indolbildung durch Typhaceen.

[Aus dem Veterinärinstitut der Universität Leipzig.
(Direktor: Prof. Dr. A. Eber).]

Von

Dr. **H. Telle**, Korpsstabsapotheker beim XIX. (2. K. S.) Armeekorps. und Dr. **E. Huber**, Assistenten am Institut.

Der hervorragende Ausbau der serodiagnostischen Untersuchungsmethoden, der die jüngste Entwickelung der bakteriologischen Wissenschaft kennzeichnet, hat das Ansehen der übrigen Unterscheidungsmerkmale der Bakterien, die früher für die Diagnosestellung von der größten Bedeutung waren, mehr oder minder geschmälert. Es gilt diese Tatsache vor allem auch für den Nachweis des Indols in Bakterienkulturen. Die Indolprobe war früher ein wichtiges Hilfsmittel zur Differenzierung der Typhaceen von den Bakterien der Coli-Gruppe; heute hat sie viel von ihrer praktischen Bedeutung verloren und wird nicht selten völlig vernachlässigt.

Wir glauben, daß dies mit Unrecht geschieht. Wenn die Prüfung auf Indolbildung gegenüber den Immunitätsreaktionen auch nur von sekundärer Bedeutung sein kann, so sollte ihr doch mehr als bisher Beachtung geschenkt werden. Denn die serodiagnostischen Methoden liefern durchaus nicht immer völlig spezifische Resultate [vergl. unter anderem die Arbeiten von Schöne (13), Müller (11)]. Nur in Verbindung mit den kulturellen Merkmalen — und zu ihnen gehört auch die Entwickelung und Nichtentwickelung von Indol — gewährleisten sie die bestmögliche Sicherstellung der bakteriologischen Diagnose.

Von den zum Nachweis von Indol dienenden Methoden hat die Salkowski-Kitasatosche Nitrosoindolreaktion in der Bakteriologie am meisten Anwendung gefunden. Sie besteht darin, daß zu je 10 ccm Kulturflüssigkeit 1 ccm einer 0,02-proz. Lösung von Kaliumnitrit und einige (5—6) Tropfen konzentrierte Schwefelsäure zugegeben werden. Das hierbei entstehende salpetersaure Nitrosoindol läßt sich [nach Lösener (9)] mit Amylalkohol ausschütteln. Nach Lehmann ist die obige Methode dahin abgeändert worden, daß man zur Kulturflüssigkeit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ihr halbes Volumen 10-proz. Schwefelsäure und einige (5—6) Tropfen einer 0,02-proz. Kaliumnitritlösung hinzufügt.

Von Crisafulli [zit. nach Crossonini (4)] und Bayer (2) wurde Indol mit Hilfe der entstehenden kirschroten Farbe an mit Salzsäure getränkten Fichtenspänen nachgewiesen; Steensma (15) benutzte die Weylsche Nitroprussidnatriumprobe zur Feststellung von Indol, welche aber auch Kreatinin und Kreatin nachweist; ebenso kann die Légalsche Probe, welche auch andere chemische Stoffe angibt, kaum gutgeheißen werden. Morelli [zit. nach Crossonini (4)] empfahl den Nachweis des Indols durch Zusatz von Oxalsäure. Schließlich könnte auch noch die Bujwidsche Reaktion auf salpetrige Säure, die weiter nichts als eine Umkehrung der Kitasato-Salkowskischen Reaktion ist, Erwähnung finden.

Lewandowsky, Lösener, Marshall [zit. nach Crossonini (4)], Crossonini (4) und Selter (14) destillierten die Kulturen und prüften die Destillate auf das Vorhandensein des mit dem Wasserdampfe flüchtigen Indols.

Verhältnismäßig wenig Beachtung wurde bis jetzt der von Böhme (3) im Jahre 1906 in die Bakteriologie eingeführten Ehrlichschen Indolprobe geschenkt, wenngleich Böhme, ferner Marshall l. c. und Crossonini l. c. darauf hinwiesen, daß sie der Nitrosoindolreaktion Salkowskis überlegen sei. Die Prüfung auf Indol wird nach dieser Methode in der Weise ausgeführt, daß man zu 10 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit 5 ccm des Ehrlichschen Reagens A (Paradimethylamidobenzaldehyd 4,0, 96-proz. Alkohol 380,0, konzentrierte Salzsäure 80,0) und 5 ccm des Reagens B (Kaliumpersulfat in gesättigter wässeriger Lösung) gibt und schüttelt. Bei Anwesenheit von Indol tritt sofort oder binnen weniger Minuten eine intensive Rotfärbung auf.

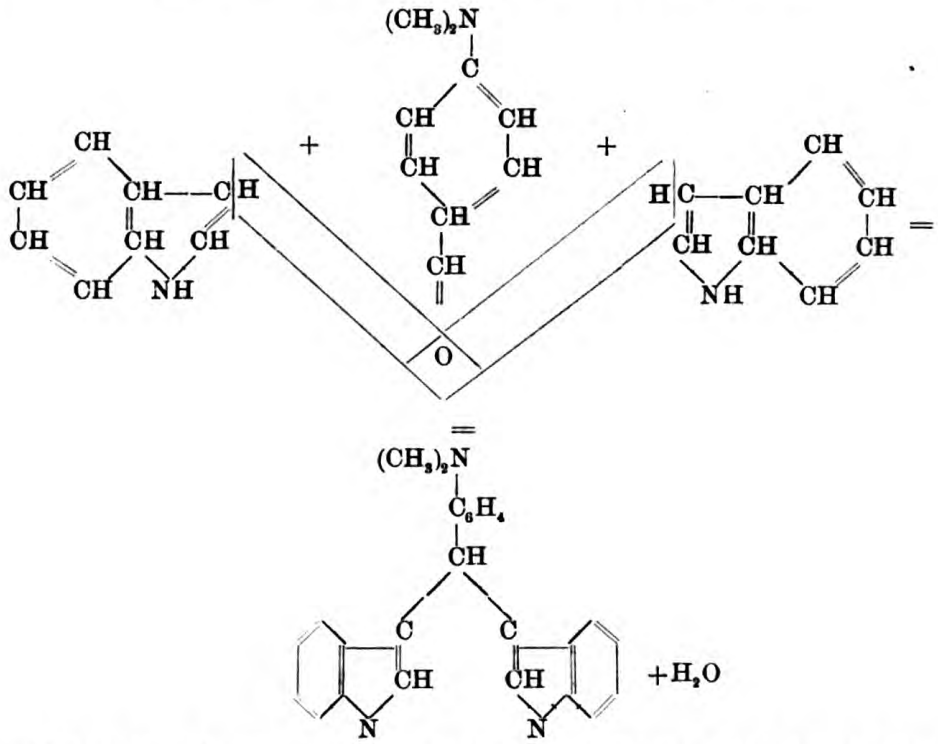
Unsere Untersuchungen beschäftigten sich zunächst damit, die in der Bakteriologie am meisten angewandte Nitrosoindolreaktion und die von den vorgenannten Autoren empfohlene Ehrlichsche Indolprobe vergleichend zu studieren.

Auf die Methoden von Crisafulli und Bayer, Indol durch mit Salzsäure befeuchteten Fichtenholzstäbchen nachzuweisen, wollen wir nicht näher eingehen, da dieselbe erstens für die bakteriologische Praxis kaum in Frage kommt und zweitens auch andere chemische Verbindungen z. B. Pyrrol, identifiziert. Ebenso wollen wir die Légalsche und Weylsche Prüfung wegen ihrer Unzuverlässigkeit nicht näher behandeln.

Bevor wir zur Beschreibung unserer eigenen Untersuchungen schreiten, sei es uns gestattet, vorerst die Chemie der Ehrlichschen Reaktion kurz zu rekapitulieren. Das Paradimethylamidobenzaldehyd des Ehrlichschen Reagens A, welches Aldehydcharakter besitzt, vereinigt sich mit dem Indol zu einem komplexen Körper unter Abspaltung eines Moleküls Wasser. Der neu entstandene Körper stellt eine Leukobase eines intensiv roten Indolfarbstoffes dar, welcher leicht durch Oxydation, d. h. bei der Ehrlichschen Reaktion durch das Kaliumpersulfat (Reagens B) in den Farbstoff übergeführt werden kann.

Nach den Untersuchungen von Emil Fischer (6), Freund und Lebach (7) reagieren 2 Moleküle Paradimethylamidobenzaldehyd mit 1 Molekül Indol, indem sich der Sauerstoff der Aldehydgruppe mit je einem Wasserstoffatom der β-Kette des Indols zu Wasser vereinigt. Diese Reaktion soll nachstehende Formel veranschaulichen:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Ueber die Chemie der Salkowskischen Probe wäre zu erwähnen, daß Indol mit der salpetrigen Säure, die durch die Schwefelsäure aus dem Kaliumnitrit frei gemacht wird, einen roten Körper bildet, der zum Teil aus sogenanntem Nitrosoindol [$C_8H_6N(NO)_2$] besteht.

Um die Empfindlichkeit der Ehrlichschen Indolprobe mit der Nitritprobe vergleichend prüfen zu können, stellten wir uns zuerst eine Stammlösung von Indolum cryst. Merck im Verhältnis 1:10000 mit destilliertem Wasser unter Zuhilfenahme einiger Kubikzentimeter Alkohol dar. Mit dieser Stammlösung wurden nun in nachstehende Flüssigkeiten verschiedene Indolmengen eingetragen und teils mit der Nitritprobe, teils nach der Ehrlichschen Methode geprüft. Es wurde Indol gelöst in

1) destilliertem Wasser,
2) 1-proz. Peptonwasser (Pepton sicc. Witte) ohne Kochsalzzusatz,
3) 1-proz. Peptonwasser mit $^1/_2$ Proz. Kochsalz,
4) Rindfleischbouillon,
5) Rindfleischbouillon nach Smith, d. h. Bouillon, die durch 12—16-stündiges Wachstum eines Dextrose oder Laktose kräftig vergärenden Coli-Stammes vom Muskelzucker befreit war.

Die Empfindlichkeitsresultate der Nitritprobbe sind folgende:

1) In einer wässerigen Indollösung trat noch im Verhältnis 1:200000 eine schwache Rotfärbung ein, die man als deutlich positiv bezeichnen muß. Bei einer Verdünnung 1:250000 war die Reaktion negativ. Wie McFarland und Small (5) noch bei einer Verdünnung 1:750000 eine deutliche einwandfreie Rotfärbung erzielen konnten, lassen wir dahingestellt sein.

2) und 3) Dieselben Resultate wie in wässeriger Lösung erhielten wir auch mit Peptonwasser ohne Kochsalzzusatz. In solchem mit Kochsalz konnten wir bei einem Indolgehalt von 1:100000 nur eine schwache

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Rosafärbung konstatieren und sind daher gezwungen anzunehmen, daß die Empfindlichkeit der Salkowskischen Reaktion durch Salze merklich beeinflußt wird.

4) Der Indolnachweis in Rindfleischbouillon gelang deutlich bis zu einer Verdünnung 1:75000. Der auch in größerer Verdünnung entstehende Farbstoff wird, wie wir später zeigen werden, durch das Gelb der Bouillon verdeckt.

5) Fast dieselben Resultate wie bei 3 fanden wir auch in der Rindfleischbouillon nach Smith.

Ein Nachteil der Salkowskischen Reaktion besteht darin, daß man besonders bei stärkeren Indolkonzentrationen an Stelle der Rotfärbung einen gelben Niederschlag erhält, und daß man, um das Gelingen der Reaktion zu garantieren, möglichst dieselben Mengenverhältnisse der Reagentien einhalten muß. Ein noch schwerwiegenderer Mißstand obiger Reaktion liegt aber in der Tatsache, daß in öfteren Fällen beim Prüfen der einzelnen Bakterienkulturen durch den Zusatz konzentrierter Schwefelsäure Veränderungen (Verbrennungen, Umsetzungen usw.) der organischen Substanz vorkommen, die in der Kulturflüssigkeit einen rosa bis braunroten Farbton hervorrufen und so mit Leichtigkeit Indol vortäuschen können. Lehmann und Neumann versuchen diesen Fehler dadurch zu korrigieren, daß sie an Stelle der konzentrierten Schwefelsäure, wie sie die Salkowskische Reaktion vorschreibt, 10-proz. Schwefelsäure, die sie im halben Volumen der zu prüfenden Bakterienkulturen zusetzen, verwenden.

Eine Reaktion, die alle eben genannten Nachteile nicht besitzt, die eine 10mal größere Empfindlichkeit als die Nitritprobe aufweist, ist unzweifelhaft die Paradimethylamidobenzaldehydreaktion nach Ehrlich, von der wir im folgenden sprechen wollen:

1) Indol in destilliertem Wasser gelöst konnten wir mit dieser Methode noch im Verhältnis 1:2000000 deutlich nachweisen. Crossonini l. c. hat sogar Indol in einer Verdünnung 1:5000000 festgestellt, indem er die zu prüfende Flüssigkeit mit dem Reagens A nicht mischte, sondern überschichtete und das Kaliumpersulfat wegließ. An der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten trat, besonders bei gelindem Erwärmen ein roter Ring auf. Wir können dieses Resultat bestätigen, glauben aber kaum, daß sich in praxi, besonders in stark trüben Bouillonkulturen, diese Methode empfehlen dürfte. Natürlich kann man nach der Crossoninischen Methode auch in Bouillon Indol in einem Verhältnis von 1:5000000 nachweisen, vorausgesetzt, daß die zwischen Kulturflüssigkeit und Reagens auftretende braune Zone als positiver Reaktionsausfall gedeutet werden darf.

2) und 3) In Peptonwasser mit und ohne Kochsalz möchten wir die Grenze der Empfindlichkeit auf 1 : 1000000 festsetzen, obgleich auch bei einer Verdünnung von 1 : 2000000 noch eine deutliche Rotfärbung auftritt. Dieselbe könnte aber bei sehr trüben Kulturflüssigkeiten leicht übersehen werden.

4) und 5) In gewöhnlicher Bouillon und auch in Bouillon nach Smith entsteht erst ein deutlich roter Farbenton bei einer Konzentration 1 : 200000. Die Rotfärbung bei größerer Verdünnung wird durch das Gelb der Bouillon verdeckt.

Die Empfindlichkeit der Ehrlichschen Reaktion wird merklich durch den Zusatz von Natriumnitrit beeinflußt; so wird in dem von Lehmann-Neumann zum Zwecke des Indolnachweises empfohlenen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Peptonwasser (NaCl 0,5 Proz., Natriumnitrit 0,02 Proz.) erst bei einem Indolgehalt 1 : 50000 eine positive Reaktion hervorgerufen.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, in Uebereinstimmung mit Böhme (l. c.), Marshall (l. c.) und Crossonini (l. c.), die erhebliche Ueberlegenheit der Ehrlichschen Probe über diejenige von Salkowski. Es muß deshalb die Forderung aufgestellt werden, den Ehrlichschen Nachweis des Indols mehr als bisher zu berücksichtigen, und besonders aus dem bereits erwähnten Grunde, daß bei der Nitritprobe durch den Zusatz der Säure die in den Bakterienkulturen vorhandenen organischen Substanzen verändert werden und durch die roten bezw. braunroten Verbrennungsprodukte eine Rotfärbung auftritt, die nicht auf Indol beruht. Dieser Nachteil ist bereits von Lösener (l. c.), Marshall, Crossonini und Huber (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 56. p. 1) genügend beleuchtet worden. Bei der Ehrlichschen Reaktion tritt eine solche trügerische Färbung nicht auf, wenn auch mitunter, jedoch äußerst selten, eine ganz schwache, meist ins Gelbe spielende Rotfärbung festgestellt werden konnte, die aber mit dem deutlich roten Farbenton selbst in einer Indollösung 1 : 2000000 unmöglich zu verwechseln ist. Bei dem negativen Ausfall der Ehrlichschen Probe wird die Prüfungsflüssigkeit erst gelb, um bei längerem Stehen eine gelbbraune Farbe anzunehmen; bei positivem Ausfall dieser Indolprobe tritt sofort oder innerhalb 5 Minuten Rotfärbung der zu untersuchenden Bakterienkulturen auf. Ein ganz gelindes Erwärmen des Reaktionsgemisches beschleunigt die Umsetzung.

Lösener und andere Autoren haben empfohlen, den bei Anwendung der Nitrosoindolreaktion in Bakterienkulturen auftretenden roten Farbstoff mittels Amylalkohol auszuschütteln. Während nämlich Indol in Amylalkohol leicht löslich ist, gehen die nicht auf Indol beruhenden, durch Zersetzung organischer Substanzen bedingten Rotfärbungen nicht in Amylalkohol über; auch lassen sich geringe Spuren einer Rotfärbung viel leichter in der kleinen Schicht des Amylalkohols als in der Gesamtmenge der Kulturflüssigkeit nachweisen.

Die Ausschüttelung des roten Farbstoffes mit Amylalkohol ist also geeignet, die Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit der Salkowskischen Indolprobe zu erhöhen.

Es erschien uns lohnenswert, sowohl mit dem bei der Nitritprobe entstehenden Nitrosoindol als auch mit dem bei der Ehrlichschen Reaktion gebildeten Farbstoff Löslichkeitsversuche in Amylalkohol und einigen anderen gebräuchlichen Lösungsmitteln anzustellen und vor allem zu erkunden, ob auch bei der Ehrlichschen Indolprobe eine Extraktion des Farbstoffes mittels Amylalkohol angebracht ist.

Das Nitrosoindol löst sich in Aether und Chloroform nur mäßig, in Benzol, Schwefelkohlenstoff und Xylol überhaupt nicht. Das beste Lösungsmittel ist und bleibt der Amylalkohol, der höchstens durch den Essigäther, in welchem sich das Nitrosoindol fast ebensogut löst, ersetzt werden könnte. Bemerkenswert ist, daß Amylalkohol verschiedener Provenienzen beim Schütteln mit einer 5—6 Tropfen Schwefelsäure enthaltenden wässerigen Kaliumnitritlösung meistens in derselben nach kürzerer oder längerer Zeit eine schwache Rotfärbung erzeugte, die aber nie in den Amylalkohol überging.

Aus diesen Untersuchungen geht demnach hervor, daß bei der Nitritprobe zum Ausschütteln geringer Indolmengen und als Differenzierungsmittel zwischen auf Indol beruhenden und nicht auf Indol beruhenden Farbstoffen nach wie vor der Amylalkohol Verwendung finden kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ein wesentlich anderes Ergebnis zeitigten die Ausschüttelungsversuche bei der Ehrlichschen Methode. Der hier gebildete Farbstoff geht ebensogut in Chloroform als in Amylalkohol über; er löst sich mäßig in Aether und Benzol; gut in Essigäther; wohingegen derselbe von Petroläther, Schwefelkohlenstoff kaum aufgenommen wird. Bei der Ausschüttelung mit Chloroform emulgieren sich die Peptonwasser- und Bouillonkulturen unter teilweiser Ausfällung der organischen Substanz. Es entsteht dann bald ein Bodensatz, der den ganzen Indolfarbstoff mitgerissen hat. In diesem Bodensatz verändert sich der Ton des Farbstoffes nur sehr langsam, und so ist man in die Lage gesetzt, Kulturen auch noch nach 2 Tagen nachkontrollieren zu können. Will man den bei der Ehrlichschen Probe entstandenen Farbstoff mit Amylalkohol ausschütteln, so darf man nur einen solchen Amylalkohol verwenden, der mit den Ehrlichschen Reagentien keine Reaktion gibt. Wir konnten nämlich an 5 Amylalkoholen verschiedener Provenienzen feststellen, daß 4 derselben auch mit dem Ehrlichschen Reagens A und B allein unter vollständiger Hinweglassung von Kulturflüssigkeiten, nur mit destilliertem Wasser verdünnt, eine starke Rotfärbung ergaben. Selbst als „chemisch rein" gehandelte Amylalkohole erzeugten mit dem Ehrlichschen Reagens eine starke Rotfärbung, die aller Wahrscheinlichkeit durch eine im Amylalkohol in ganz geringen Mengen enthaltene Verunreinigung hervorgerufen wird. Leitet man durch solchen Amylalkohol Luft, oder läßt man denselben längere Zeit dem Licht und der Luft ausgesetzt, so verliert er die Eigenschaft, mit dem Reagens A und B einen roten Farbstoff zu bilden. Welcher Körper bezw. welche Verunreinigung im Amylalkohol diese Rotfärbung hervorruft, sollen spätere Untersuchungen aufklären.

Wir möchten aber auf Grund dieser Erfahrung von der Ausschüttelung mit Amylalkohol bei der Ehrlichschen Probe abraten und vorschlagen, denselben durch das weit besser geeignete Chloroform, das mit den Ehrlichschen Reagentien absolut keine Veränderung zeigt, zu ersetzen. Ferner empfehlen wir die Nitritprobe zu verlassen und die viel empfindlichere Ehrlichsche Probe anzuwenden. Es wird sich bei der enormen Empfindlichkeit der Probe eine Ausschüttelung meistens erübrigen, sollte eine solche aus irgendwelchen Gründen doch vorgenommen werden, so ist am besten Chloroform und nicht Amylalkohol als Ausschüttelungsfluidum zu verwenden.

Im Anschluß an unsere Studien über die Methoden des Indolnachweises beschäftigten wir uns mit der Frage der Indolbildung durch Typhaceen. Es liegen in der Literatur mehrfach Mitteilungen vor, daß bei Bakterien der Hogcholeragruppe, bei Enteritidis Gärtner- und bei Typhusstämmen Indolbildung beobachtet wurde. Vor allem sind hier die Arbeiten von Poppe (12) und Andrejew (1) zu erwähnen. Poppe fand bei Paratyphus B- und Suipestifer-Kulturen Indolbildung, die in Bouillonkulturen etwa vom 15. Tage an, in Peptonwasserkulturen bedeutend früher, vom 5. Tage an, in Erscheinung trat. Nach Andrejews Untersuchungen war die Indolreaktion bei einer großen Reihe von Typhus-, Paratyphus B-, Suipestifer- und Enteritidis Gärtner-Stämmen stets positiv. Es ist von einem von uns schon an anderer Stelle[1]) eingehend dargetan worden, daß diese von den Ergeb-

1) Huber, Emil, Die Paratyphus B-ähnlichen Bakterien des Pferdedarmes. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 56. p. 1.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nissen der meisten anderen Autoren abweichenden Befunde die Folgen einer nicht einwandfreien Untersuchungsmethode sind. Poppe und Andrejew gebrauchten die Salkowskische Indolprobe, ohne jedoch den auftretenden roten Farbstoff mit Amylalkohol auszuschütteln. Sie nahmen an, daß die nach Zusatz von Nitrit und Schwefelsäure auftretende Rot- und Rosafärbung, wie sie auch bei nicht indolbildenden Bakterienkulturen sich einstellt, auf dem Vorhandensein von Indol beruhe.

Huber konnte im Gegensatz zu Poppe und Andrejew an 22 Stämmen der Hogcholeragruppe und an einem Enteritidis Gärtner-Stamm nie Indolbildung nachweisen. Durch seine und Andrejews[1]) Untersuchungen wurde ferner festgestellt, daß es Paratyphus B-ähnliche Bakterien gibt, die durch Paratyphus B- und Hogcholerasera spezifisch, wenn auch niedrig, agglutiniert werden, die sich aber von echten Bakterien der Hogcholeragruppe unter anderem durch kräftige Indolbildung unterscheiden. Da die Indolprobe eine schnelle und einfache Differenzierung dieser Paratyphus B-ähnlichen Bakterien von den Bakterien der Hogcholeragruppe gestattet, erschien es uns von Bedeutung, an einem größeren Material das Fehlen einer Indolbildung bei den Bakterien der Hogcholeragruppe darzutun. Mit Rücksicht auf die Untersuchungsergebnisse Andrejews haben wir auch bei Typhus- und Gärtner-Stämmen die Frage der Indolentwickelung geprüft.

Zu unseren Untersuchungen standen uns die folgenden Kulturen zur Verfügung:

Typhus	22	Stämme
Paratyphus A	1	Stamm
Paratyphus B	13	Stämme
Mäusetyphus	1	Stamm
Psittakose	1	Stamm
Suipestifer	5	Stämme
Typhus suis Glässer	2	„
Paratyphus suis Glässer	4	„
Enteritidis Gärtner vom Menschen	6	„
Enteritidis Gärtner vom Tiere	8	„
Zusammen	63	Stämme

Wir erhielten diese Stämme aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig, aus dem Hygienischen Institut der Berliner tierärztlichen Hochschule, aus dem Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin, aus dem Institut für Seuchenlehre an der Tierärztlichen Hochschule zu Stuttgart, aus dem Pathologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule zu Hannover und aus dem bakteriologischen Laboratorium des Schlachthofes zu Leipzig. Den Herren Privatdozenten Dr. P. Schmidt[2]) und Dr. Trautmann, Leipzig, Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Frosch und Prof. Dr. Lentz, Berlin, Prof. Dr. Rein-

1) Nach Abschluß dieser Arbeit veröffentlichten Burri und Andrejew im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 56. p. 217 „Vergleichende Untersuchungen einiger Coli- und Paratyphusstämme". Obige Autoren verwerten als positive Indolreaktion nur das nach der Ehrlichschen Methode erhaltene Ergebnis und raten im gleichen Sinne wie wir von der noch meistens gebräuchlicheren älteren Methode nach Salkowski ab, weil dieselbe zu irrtümlichen Schlüssen führt. Bezüglich der biochemischen Reaktionen haben Burri und Andrejew gefunden, daß immer dort, wo Indolreaktion war, auch Kreatinin nachgewiesen wurde, während Proteinochrom (Tryptophan) fehlte (vergl. Huber, l. c.). Umgekehrt haben alle Stämme, welche weder Indol noch Kreatinin bilden, typische Proteinochromreaktion ergeben.

2) Herrn Privatdozenten Dr. P. Schmidt-Leipzig sind wir für manchen wertvollen Ratschlag und für das rege Interesse an unserer Arbeit besonders dankbar.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hardt, Stuttgart, Dr. Glässer, Hannover und Dr. Horn, Leipzig, welche unsere Untersuchungen durch Ueberlassung der Kulturen ermöglichten, möchten wir auch an dieser Stelle ergebensten Dank aussprechen.

Sämtliche Stämme wurden durch Züchtung auf Agar, Gelatine, Lackmusmolke und Milch, durch Anfertigung eines Gram-Präparates und durch die Agglutination auf Reinheit und Echtheit geprüft. Die Untersuchung auf Indol geschah zunächst an 15- und 30-tägigen Peptonwasserkulturen (Peptonum siccum Witte 1 Proz., Natrium chloratum 0,5 Proz.) mit der Ehrlichschen Probe. Bei keiner der Kulturen konnte Indol nachgewiesen werden. Nun wurde versucht, durch die Destillation Indol festzustellen. Das in gleicher Weise zusammengesetzte Peptonwasser wurde zu 100 ccm in Rundkolben abgefüllt, die nach erfolgter Sterilisation durch Zugießen einiger Kubikzentimeter 24-stündiger Peptonwasserkulturen der einzelnen Stämme infiziert wurden. Von jedem Stamme wurden 2 Rundkolbenkulturen angelegt. Vor der Destillation der Kulturen, die nach 15 und 30 Tagen vorgenommen wurde, wurden von sämtlichen Kolben Agarröhrchen beschickt und die erhaltenen Kulturen auf Reinheit geprüft. Die Destillate und die Destillationsrückstände wurden mit der Ehrlichschen Probe auf Indol untersucht. Die Indolprobe fiel auch hier stets negativ aus.

Nach den Untersuchungen von Morris (10) und Selter (14) geht die Entwickelung von Indol proportional dem Peptongehalt der betreffenden Nährmedien vor sich. Wir haben deshalb an einem größeren Untersuchungsmateriale festzustellen gesucht, ob sich in Peptonkochsalzlösung mit mehr als 1 Proz. Peptongehalt Indolbildung nachweisen ließe. Zu diesen Versuchen wurde ein Teil der früher erwähnten Bakterienstämme sowie die Mehrzahl der von Huber auf Indolbildung untersuchten Paratyphus B- und Suipestifer-Stämme herangezogen, im ganzen 50 Kulturen (Paratyphus B = 23, Enteritidis Gärtner = 11, Schweinepest = 16). Von jedem dieser Stämme wurde je ein Röhrchen mit 5-proz. und 10-proz. Peptonwasser angelegt, und zwar dienten zur Infektion der Peptonwasserröhrchen 24-stündige Agarkulturen. Die Untersuchung auf Indol wurde nach 20-tägigem Wachstum im Brutschrank mittels der Ehrlichschen Probe vorgenommen. Auch bei diesen Untersuchungen ergab sich überall die Abwesenheit von Indol; die Ehrlichsche Probe fiel stets negativ aus.

Selter konnte bei Typhus- und Paratyphusbakterien nach 10-tägigem Wachstum auf 5-proz. Peptonbouillon auf direktem Wege mittels der Nitrosoindolreaktion kein Indol nachweisen. Dagegen gelang es ihm bei Anwendung der von Lewandowsky (8) geübten Methode, durch Destillation großer Kulturmengen (250 ccm 5-proz. Peptonbouillon) bei Bact. typhi in den ersten 10 ccm des Destillats geringe Indolreaktion zu erzielen, während bei Bact. paratyphi Brion-Kayser kein Indol festzustellen war. Wenn die Bildung so geringer und nur durch Destillation nachweisbarer Mengen von Indol durch Typhusbakterien auch für die Differenzierung derselben von den Bakterien der Coli-Gruppe, wie Selter selbst hervorgehoben hat, ohne Wichtigkeit ist, so ist die Frage, ob Typhusbakterien sowie die Bakterien der Hogcholera- und Gärtner-Gruppe Indol bilden, doch von erheblicher prinzipieller Bedeutung. Wir haben deshalb die Selterschen Versuche an 20 unserer Stämme nachgeprüft, und zwar untersuchten wir 10 Typhusstämme, 4 Paratyphus B-, 2 Suipestifer- und 4 Gärtner-Kulturen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Als Nährmedien benutzten wir bei diesem Versuche mit Selter schwach alkalisierte Rindfleischbouillon mit Zusatz von 5-proz. Pepton Witte und $^1/_2$ Proz. Kochsalz, ferner auch 5 Proz. Peptonwasser. Die beiden Nährflüssigkeiten wurden in je 11 große Rundkolben zu je 200 ccm abgefüllt und an 2 aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert. 20 Kolben wurden sodann durch Zugießen einiger Kubikzentimeter 24-stündiger Bouillon- bzw. Peptonwasserkulturen der zu untersuchenden Stämme infiziert; ein Bouillon- und ein Peptonwasserkolben wurden zur Kontrolle der Sterilität ohne Beschickung in den Brutschrank gestellt. Die Destillation wurde nach 20 Tagen vorgenommen. Vor Beginn derselben wurde von jedem Kolben auf Schrägagar abgeimpft und die erhaltenen Kulturen auf Reinheit untersucht. Das Destillat wurde zu je 10 ccm in sterilen Reagensgläsern aufgefangen und mit der Ehrlichschen Probe auf die Anwesenheit von Indol geprüft.

Bei den Destillaten aus Peptonwasserkulturen hätte nur bei sehr wenig Röhrchen der Schluß auf das Vorhandensein von Indol gezogen werden können, da das zu prüfende Destillat, meistens waren es die ersten 10 ccm, ganz schwach rot war. Nach Ausschüttelung mit Chloroform und Vergleichen mit einer Kontrollreaktion einer künstlich dargestellten Indollösung im Verhältnis 1 : 2000000 konnte die vollkommene Abwesenheit von Indol festgestellt werden. Bei Bouillon trat eine rötliche Gelbfärbung in einer größeren Anzahl Destillaten als bei Peptonwasserkulturen auf; aber auch hier stellte sich beim Ausschütteln mit Chloroform und Vergleichen mit einer Kontrollreaktion heraus, daß der rötlichbraune Bodensatz total verschieden vom wirklichen Indolfarbstoff war.

Auf Grund dieser Untersuchungen möchten wir es als erwiesen ansehen, daß die Bakterien der Typhus-, Paratyphus- und Enteritidis Gärtner-Gruppe kein Indol bilden. Unter den untersuchten Kulturen waren neben wenigen Wochen alten viele solche, die schon jahrelang auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet worden waren. Das Alter der Kulturen scheint also für die Fähigkeit, Indol zu produzieren, ohne Bedeutung zu sein. Auch konnten wir, im Gegenteil zu Selter, selbst in sehr peptonreichen Nährmedien nie Indolbildung feststellen.

Die Resultate unserer Studien fassen wir in folgenden Sätzen zusammen:

1) Die Salkowski-Kitasatosche Indolprobe zeigt Indol in einer Verdünnung 1 : 200000 an. Mit der Ehrlichschen Reaktion kann Indol noch in der Verdünnung 1 : 2000000, bei Benutzung der Crossoninischen Modifikation sogar 1 : 5000000 nachgewiesen werden.

2) Beide Indolproben liefern in destilliertem Wasser und in Peptonwasser bei weitem bessere Resultate als in Bouillon. Salze, bei der Ehrlichschen Probe besonders Natriumnitrit, stören das Eintreten der Reaktion.

3) Während durch Zusatz von Nitrit und Schwefelsäure zu Bakterienkulturen häufig in diesen Rotfärbungen auftreten, die Indol vortäuschen können, ist dies bei Vornahme der Ehrlichschen Reaktion fast nie der Fall.

4) Bei der Nitrosoindolreaktion ist die Extraktion des roten Farbstoffes durch Amylalkohol oder auch durch Essigäther ein Mittel, die Zuverlässigkeit und Empfindlichkeit dieser Indolprobe zu erhöhen. Bei

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verwendung der Ehrlichschen Reagentien ist an Stelle des Amylalkohols besser Chloroform zu verwenden. Meistens wird bei dieser Indolprobe eine Extraktion des Farbstoffes entbehrlich sein.

5) In Typhus-, Paratyphus-, Suipestifer- und Gärtner-Kulturen konnte weder direkt noch durch Destillation, selbst bei längerem Wachstum in Nährböden mit 5 und 10 Proz. Peptongehalt, Indolbildung festgestellt werden.

Literatur.

1) Andrejew, P., Untersuchungen über die bakterielle Flora des Hammeldarmes auf das Vorkommen von Bakterien der Hogcholeragruppe. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 33. 1910. p. 363.)
2) Bayer, Berl. Berichte. 22. 1976.
3) Böhme, A., Die Anwendung der Ehrlichschen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. p. 129.)
4) Crossonini, E., Ueber den Nachweis von Indol in bakterischen Kulturen mit der Ehrlichschen Methode. (Arch. f. Hyg. Bd. 72. 1910. p. 161.)
5) Farland, J., and Small, J. H., An improvement in the technic of the indol test. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 41. 1908. p. 316.)
6) Fischer, E., Berl. Berichte. Bd. 19. p. 2988.
7) Freund u. Lebach, Berl. Berichte. Bd. 36. p. 308.
8) Lewandowsky, Dtsche med. Wochenschr. 1890. No. 51.
9) Lösener, W., Ueber das Vorkommen von Bakterien mit den Eigenschaften der Typhusbacillen in unserer Umgebung etc. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 11. 1895. p. 207.)
10) Morris, M., Studien über die Produktion von Schwefelwasserstoff, Indol und Merkaptan bei Bakterien. (Arch. f. Hyg. Bd. 30. 1897. p. 304.)
11) Müller, E., Variieren Typhusbacillen? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910. p. 209.)
12) Poppe, K., Beiträge zur vergleichenden Biologie des Bacillus suipestifer und des Bacillus paratyphi B. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 5. 1908/09. p. 42.)
13) Schöne, Ueber Infektionen mit Paratyphusbacillen des Typus A und Befunde von verwandten Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 65. 1910. p. 1.)
14) Selter, Ueber Indolbildung durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 465.)
15) Steensma, F. A., Ueber den Nachweis von Indol und die Bildung von Indol vortäuschenden Stoffen in Bakterienkulturen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906. p. 295.)

Nachdruck verboten.

Zur Frage über die Diagnose der Choleravibrionen.

Ergebnisse der Choleraepidemie in Petersburg 1909 und 1910[1]).

[Aus der bakteriologischen Abteilung des städtischen Untersuchungsamtes in Petersburg. Leiter: Dr. Jakowlew].

Von Dr. med. **L. Horowitz,** Assistentin.

Aus der großen Anzahl der Untersuchungen, die im Laboratorium während der Choleraepidemie ausgeführt wurden (im ganzen fast 14000 mit 2794 positiven Befunden) ergibt sich im allgemeinen, daß die Eigenschaften der Choleravibrionen nicht konstante sind und nicht immer zur Unterscheidung des echten Choleravibrio genügen.

1) Dieser Artikel bildet einen kurzen Bericht einer Arbeit, welche im nächsten Hefte des „Archivs der biologischen Wissenschaften" im Januar veröffentlicht werden wird, wo auch der Gesamtüberblick der Literatur über die Frage und die ausführliche Beschreibung eigener Untersuchungen gegeben wird.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Stämme von Vibrionen, die aus den Faeces gezüchtet und als Choleravibrionen mittelst der Agglutinationsprobe erkannt sind, erweisen sich weder bezüglich der Morphologie, noch auch hinsichtlich der kulturellen und biochemischen Merkmale identisch.

Experimentell erweist sich die Morphologie eines gegebenen Stammes nicht immer als dieselbe, sondern sie läßt sich leicht ändern, wie es Prof. Metschnikoff schon seit Jahren festgestellt hat, da sie sich unter günstigen Lebensbedingungen als typisch erweist, während sie in schlecht geeigneten Substraten merklich verändert wird, so in den Nährmedien, die kein Eiweiß enthalten, oder in Bouillon bei Zusatz von Nitraten, oder noch im schwach sauren Nährsubstrat, wo der Vibrio eine geringere Krümmung bekommt, dünner wird und sich dem alten Typus des Bacillus nähert. Dieselben Aenderungen lassen sich bei den Vibrionen beobachten, die schon lange, seit einem Jahre und mehr, auf den gewöhnlichen Nährmedien gedeihen. Die proteolytische Wirkung, die gewöhnlich die frisch gezüchteten Choleravibrionen charakterisiert, ist nicht dauernd, denn schon 2—3 Monate später verflüssigen einige Stämme Gelatine nicht mehr. In Milch wachsen sie gewöhnlich, ohne irgendwelche Aenderungen hervorzurufen; einige Stämme aber bringen Kasein zur Gerinnung.

Die Nitrosoindolreaktion, die immer positiv mit den typischen Choleravibrionen ausfällt, kann unter besonderen Umständen fehlen, wenn z. B. das flüssige Nährsubstrat reich an Sauerstoff ist, so bilden die Vibrionen wohl Indol, reduzieren aber Nitrate nicht. Bei den atypischen Vibrionen, welche sich bei eingehenderen Studien auch als Choleravibrionen erweisen, bleibt die Reaktion des Nitrosoindols häufig negativ.

Unsere typischen, frisch aus den Faeces gezüchteten Choleravibrionen übten immer eine intensive hämolytische Wirkung auf Hammelblutagarplatten, was im Widerspruch mit den bekannten Behauptungen von Prof. Kraus steht. Aber ein halbes Jahr später wurde diese Wirkung schwächer, und nach 10—12 Monaten war sie ganz erloschen.

Zu diesen Merkmalen konnten wir noch eines hinzufügen, nämlich die Eigenschaft der Choleravibriokulturen, sich unter Umständen violett zu färben. Dieses geschah, wenn die Choleravibrionen in naher Nachbarschaft mit der gelben Sarcina wuchsen. Da schon seit vielen Jahren Prof. Metschnikoff den eigentümlichen begünstigenden Einfluß dieser Bakterienart auf die Entwickelung des Choleravibrio bemerkt hat, haben wir die neu beobachtete Erscheinung etwas eingehender studiert. Die Bedingungen, unter denen sie sich beobachten läßt, sind die, welche für die Färbung von Pigment erzeugenden Bakterienarten nötig sind, nämlich niedrige Temperatur, freier Luftzutritt usw. Es ist aber wahrscheinlich, daß es sich hier nicht um ein echtes Pigment handelt, sondern um eine chemische Farbenreaktion zwischen den löslichen Produkten beider Bakterienarten, indem der Farbstoff von den Vibriozellen fixiert wird. Wir neigen der Ansicht zu, daß die Rolle der Sarcina lutea hierbei hauptsächlich von ihren katalytischen Eigenschaften abhängt (welche von D. und M. Rywosch in einer Reihe systematischer Untersuchungen festgestellt worden sind). Diese Erscheinung ist auch sehr inkonstant, denn nach zahlreichen positiven Versuchen (mit mehr als 25 Stämmen während 6 Monaten) bleibt die Färbung mit denselben Vibrionen- und Sarcina-Stämmen aus.

Die Reaktion der Komplementablenkung erwies sich immer positiv für die typischen Choleravibrionen, die sich von dem Choleraserum bis

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu der Titergrenze agglutinieren ließen. Mit den atypischen Vibrionen, welche sich bei der systematischen Untersuchung immer als Choleravibrionen erweisen, war diese Reaktion öfters negativ.

Die Agglutinationsprobe mit den meisten Choleravibrionen, die aus den Faeces der Cholerakranken und den Gesunden gezüchtet wurden, war bis zu der Titergrenze des hochwertigen Choleraserums (Pferdeserum von Schurupow), Titer $^1/_{10000}$ deutlich ausgesprochen, während das normale Pferdeserum sie nicht höher als $^1/_{10}$—$^1/_{50}$—$^1/_{100}$ agglutinierte.

Nur in 118 Fällen (ungefähr 4,3 Proz. aller Befunde) wurden in den Faeces Vibrionen gefunden, die sich nur wenig durch spezifisches Serum $^1/_{100}$, $^1/_{500}$, $^1/_{1000}$ agglutinieren ließen; für einige war die Agglutinationsprobe sogar in der Verdünnung von $^1/_{100}$ negativ. Bei unseren Untersuchungen bestrebten wir uns besonders, die echte Natur einiger dieser Vibrionenstämme aufzuklären.

Von 42 Rassen, die wir aufbewahrt und studiert haben, waren 20 bei choleraverdächtigen Kranken gefunden, 8 bei gesunden Personen, die in der Nähe von Cholerakranken wohnten, 14 bei Kranken am Ende des Choleraprozesses, nachdem die typischen Choleravibrionen vorher gefunden und dann verschwunden waren.

In zwei Fällen, die zu den Befunden bei gesunden Personen gehören, wurden in derselben Familie in den Faeces einer anderen Person die typischen Choleravibrionen gefunden, die sich $^1/_{10000}$ agglutinieren ließen; in einem Falle (No. 3869) war der Vibrio mit der Agglutinierbarkeit $^1/_{500}$ aus den Faeces eines gesunden Mädchens gezüchtet, das schon einen Tag später an Cholera erkrankte; während dieser Krankheit wurden mehrmals (sogar nach 63 Tagen) aus den Faeces typische Choleravibrionen gezüchtet.

In zwei Fällen, die zu den erwähnten 14 gehören, wurden am gleichen Tage auf denselben Platten zwei Vibrionenarten gefunden, die echten typischen Choleravibrionen und die anderen, die etwas verschiedene Eigenschaften besaßen und sich nur schwach durch Choleraserum agglutinieren ließen.

Ueber die Bedeutung dieser atypischen Vibrionen sind im allgemeinen zwei Meinungen annehmbar; entweder gelangen diese Vibrionen ganz gelegentlich in den Darm und haben mit den Choleravibrionen nichts zu tun, oder sie sind mit den letzteren nahe verwandt und, trotz mehrerer Verschiedenheiten, nichts anderes als die Mutationen des Grundtypus, die ihre Entstehung den geänderten Lebensbedingungen verdanken.

Bekanntlich vertreten die meisten Forscher erstere Ansicht. Trotzdem während der Choleraepidemie in Aegypten die Befunde dieser „choleraähnlichen" Vibrionen bis zu 25 Proz. aller Befunde ergaben, schließt Prof. Kolle die letzte Hypothese aus, da diese atypischen Vibrionen stets im Darm nur in kleinen Mengen vorkommen und niemals den Ausgangspunkt einer lokalen Epidemie bilden. Außerdem erzeugten die meisten dieser Vibrionenarten bei der Immunisierung ein Serum, das keine echten Choleravibrionen und keine andere Vibrionenart agglutinierte. Zu diesen natürlich sehr wichtigen Ergebnissen fügt Prof. Kolle treffend hinzu, daß auf dem Gebiete der pathogenen Bakterien keine anderen Beispiele solcher Mutationen bekannt seien.

Aber wenn man annimmt, daß diese unbestimmten Vibrionen degenerierte Choleravibrionen sind, die in ihrer Lebensfähigkeit wie in ihrer Tierpathogenität abgeschwächt sind, so erscheinen die zwei ersten Ergebnisse natürlich. Was das letztere Argument anbetrifft, so ist in den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

letzten Jahren eine lange Reihe von Forschungen veröffentlicht worden, die in einwandfreier Weise zeigen, daß auf dem Gebiete der pathogenen Bakterien die Mutationen sich alltäglich nachweisen lassen; namentlich sind fast alle biologischen Eigenschaften der Bakterien zu Mutationen in gewissen Grenzen fähig, und unter anderen Eigenschaften auch die scheinbar beständige Funktion, wie die Agglutinin bindende und die Agglutinin erzeugende.

Wir erinnern nur an die Arbeiten von Saquepée, Bancel, Müller, Nicolle und Trenel, Hirschbruch, Malvoz, Ransom und Kitashima über den Typhusbacillus, von Zlatogorow, Jirnow, Barrenschen über den Choleravibrio, von Schibayama und Gotschlich über den Pestbacillus, von Sobernheim und Seligmann über die Bakterien der Gruppe B. coli, wie die Bacillen des Paratyphus und die Bacillen von Gärtner, ferner die Forschungen von Bordet und Sleeswijk über den Keuchhustenbacillus, von Defalle über B. mycoides und von Kirstein über B. prodigiosus usw.

Außerdem ist zu bemerken, daß die „choleraähnlichen" Vibrionen, die im allgemeinen sich höchst selten im Darminhalte außerhalb von Choleraepidemieen finden, wie es aus den Untersuchungen von Rothe und Meinicke hervorgeht, während der Choleraepidemie relativ oft in Nähe des echten Choleravibrio vorkommen. Besonders darf nicht außer acht gelassen werden, daß diese Vibrionen sich öfters aus den Dejekten von Menschen züchten lassen, die eben die Cholera überstanden haben. In den Untersuchungen von Zlatogorow entsprechen solche Befunde 15 Proz. aller atypischen Vibrionen. Burgers hat sie in 12 Fällen bei Genesenden gefunden, Margulies und Dembskaja in 18; in unseren Untersuchungen wurden unter 42 atypischen Vibrionen 14 während der Genesung nach dem Choleraanfalle nachgewiesen.

Die nachstehende Tabelle I gibt eine kurze Zusammenfassung der Eigenschaften der Vibrionen, die aus den Faeces einiger Personen während des Verlaufes der Erkrankung gezüchtet wurden.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die echten Choleravibrionen und die anderen nicht unerhebliche Differenzen untereinander aufweisen, so daß sie bei oberflächlicher Vergleichung den Eindruck machen, als ob es sich um verschiedene Bakterienarten handelte.

Aber andererseits wissen wir schon, daß Kennzeichen, wie die Morphologie, variabel sind und ferner die Nitrosoindolreaktion und die hämolytische Wirkung sich auch unter gewissen Verhältnissen ändern und sogar verschwinden können, indem die Unterschiede unter den beiden Gruppen immer weniger bedeutend erscheinen. Außerdem lassen sich unter ihnen alle möglichen Uebergangstypen finden, wie Tabelle II zeigt. Es bleibt aber immer der negative Ausfall der Agglutinationsprobe (die Agglutination $^1/_{500}$ läßt sich natürlich nicht für die Diagnose benutzen); obgleich jetzt, wo wir die sogenannten „serumfesten" Bakterienstämme kennen, das nicht entschieden gegen die Choleranatur dieser verdächtigen Vibrionen spricht, haben wir doch kein Recht, diese Vibrionen mit den echten Choleravibrionen ohne weiteres zu identifizieren.

Dazu ist es absolut notwendig, diese Vibrionen experimentell in Verhältnisse zu bringen, wo sie die verlorenen Eigenschaften wiedergewinnen können, wobei es sich hier um die Mutation in den Grenzen handeln kann, die zwei verschiedene Arten voneinander trennen. Nur dadurch würde der Schluß gerechtfertigt sein, daß der angegebene Stamm nur eine Mutation des Grundtypus, nicht aber der Vertreter einer ganz anderen Bakterienart ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

	No.	Moment der Züchtung	Faeces	Morphologie	Geißel	Wachstum auf Agar	Verflüssigte Gelatine	Milchgerinnung	Nitrosoindolreaktion	Hämolytische Wirkung	Komplementablenkung	Agglutination	Violette Färb. in d. Symbiose mit der Sarcina lutea
1	4169	14. 7. 4. Tag der Erkrankung	geformt	normal	1 endständ.	normal	—	—	+	+	+	$^1/_{10000}$	+
	4299	18. 7.	„	wenig gekrümmt	1	dünn	—	—	—	—	—	$^1/_{500}$	—
2	4170	14. 7. 7. Tag der Erkrankung, 3 Tage nach dem Ende der Erkrankung	„	ger. Krümmung	1	„	—	—	—	—	—	$^1/_{500}$	—
	4293	17. 7.	„	normal	1	normal	+	—	+	+	+	$^1/_{10000}$	+
	4425	21. 7.	„	„	1	„	—	—	+	+	+	$^1/_{10000}$	—
3	4081	12. 7. 13. Tag der Erkrankung, 4. Tag normaler Stuhl	„	„	1	„	±	—	+	+	+	$^1/_{10000}$	+
	4301	18. 7.	„	ger. Krümmung	1	dünn	—	—	—	—	—	$^1/_{500}$	—
4	5421	21. 9. 8. Tag der Erkrankung	breiig	„ „	1	normal	—	—	—	—	—	$^1/_{4000}$	—
	5526	27. 9.	geformt	„ „	1	dünn	—	—	—	—	—	$^1/_{500}$	—
5	5422	21. 9. 14. Tag der Erkrankung	breiig	normal	1	normal	—	—	+	+	+	$^1/_{10000}$	+
	5528	27. 9.	geformt	ger. Krümmung	1	dünn	—	—	—	—	—	$^1/_{500}$	—
6	5393	19. 9.	breiig	normal	1	normal	—	—	+	+	+	$^1/_{10000}$	+
	5534	28. 9.	geformt	ger. Krümmung	1	dünn	—	—	—	—	—	$^1/_{500}$	—
*7	4464	22. 7.	Reisstuhl	normal	1	normal	—	—	+	+	+	$^1/_{10000}$	+
	4910_1	8. 8.	wässerig	„	1	„	—	—	+	+	+	$^1/_{10000}$	+
	4910_2	8. 8.	„	dünn, lang, wenig gekrümmt	3—4	dünn	—	—	—	—	—	$^1/_{1000}$	—
	4957	14. 8.	flüssig, gelb	normal	1	normal	—	—	+	+	+	$^1/_{10000}$	+
8	5178	2. 9.	Reisstuhl	„	1	„	—	+	+	6. 1. + 9. 8. —	+	$^1/_{10000}$	+
	5692	28. 9.	geformt	dünn, lang, wenig gekrümmt	3—4	dünn	—	—	—	—	—	$^1/_{1000}$	—
	5875_1	27. 10.	breiig	normal	3—4	normal	—	—	+	+	+	$^1/_{2000}$	—
	5875_2	27. 10.	„	dünn, lang, wenig gekrümmt	3—4	dünn	—	—	—	—	—	$^1/_{1000}$	—

Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle II.
Tabelle der Eigenschaften der im Texte erwähnten

	Faeces	Moment der Züchtung	Morphologie	Zahl der Geißeln	Wachstum auf Agar	Verflüssigung der Gelatine
3541	Reiswasserstuhl	28. 6.	normal	1 endständig	normal	—
3716	geformt	4. 7.	„	1	üppig, gelblich	+ 2. Tag
3725	„	4. 7.	„	1	„ „	+ 2. „
3863	„	8. 7.	„	1	normal, üppig	+ 3. „
3869	„	8. 7.	„	1	normal	+ 3. „
4012	flüssig	9. 7.	„	1	„	—
4171	geformt	15. 7.	wenig gekrümmt	1	relativ spärlich	—
4373	„	21. 7.	geringe Krümmung	1	spärlich	—
4620	breiig	27. 7.	„ „	1	„	—
4650	geformt	28. 7.	„ „	1	„	—
5143	breiig	31. 8.	„ „	1	„	—
5165	„	2. 9.	normal	1	üppig, normal	+ 2. Tag
5185	geformt	4. 9.	geringe Krümmung	1	spärlich	+ 8. „
5240	flüssig	7. 9.	normal	1	üppig, normal	+ 2. „
5342	„	15. 9.	geringe Krümmung	1	spärlich	—
5608	„	5. 10.	normal	1	normal	—
5850	geformt	24. 10.	geringe Krümmung	1	spärlich	—
M	„	7. 6.	normal	2—3	„	—
K	„	2. 2.	„	2—3	„	—
T	„	15. 2.	„	2—3	„	—
F	„	10. 1.	„	2—3	„	—
Ch	„	23. 6.	„	1	„	—
2702	flüssig	1. 3.	geringe Krümmung	2—3	„	+

Dieser Beweis wurde in den schon erwähnten Forschungen erbracht, da die atypischen Stämme, die frisch gezüchtet, sich keineswegs von den spezifischen Seris beeinflussen lassen, in der Folge diese Eigenschaft wiedergewannen.

Wird aber, was auch möglich ist, dieses Resultat nicht erzielt, so empfiehlt es sich, die sogenannte Kreuzagglutination anzuwenden, wie Kolle und Gotschlich es in ihren eingehenden Studien über die Vibrionen der ägyptischen Epidemie gemacht haben. Wenn auch der negative Ausfall dieser Agglutination die Frage unseres Erachtens offen läßt, bildet dagegen das positive Ergebnis ein sicheres Mittel, um die Natur der verdächtigen Vibrionen aufzuklären.

Die Studien über unsere verdächtigen Vibrionen, die in diesem Sinne ausgeführt wurden, ergaben folgende Resultate:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

atypischen Choleravibrionen (siehe auch die Tabelle I).

Kaseingerinnung	Nitrosoindolbildung	Hämolytische Wirkung	Komplementablenkung	Agglutinabilität nach der Auszucht vom Choleraserum von Schurupow	Bemerkungen
—	—	—	—	$^1/_{1000}$	10. 1. läßt sich vom Choleraserum von Schurupow $^1/_{4000}$ agglutinieren
+ 4. Tag	—	+	+	0	Das mit No. 3716 hergestellte Serum agglutiniert die typischen Cholerastämme
+ 4. „	—	+	±	$^1/_{400}$	Läßt sich mit Serum 3716 bis zu der Titergrenze agglutinieren
—	+	+	—	$^1/_{1000}$	17. 1. läßt sich $^1/_{10000}$ vom Choleraserum agglutinieren
—	+	+	+	$^1/_{500}$	5. 11. läßt sich $^1/_{2000}$ vom Choleraserum agglutinieren; nach der Symbiose mit der Sarcina lutea $^1/_{10000}$
—	+	+	+	$^1/_{1000}$	25. 12. läßt sich $^1/_{10000}$ agglutinieren
—	—	—	—	$^1/_{500}$	Läßt sich von den Sera 5528 und 5534 bis zu der Titergrenze agglutinieren. Vom Choleraserum nach der Symbiose mit der Sarcina lutea $^1/_{10000}$
—	—	—	—	$^1/_{500}$	Wie No. 4171
—	—	—	—	$^1/_{500}$	dgl.
—	—	—	—	$^1/_{500}$	„
—	—	—	—	$^1/_{500}$	„
+ 3. Tag	+	+	+	$^1/_{500}$	Läßt sich vom Choleraserum No. 5178 $^1/_{4000}$ agglutinieren nach der Symbiose mit der Sarcina $^1/_{4000}$ auch vom Choleraserum von Schurupow
—	±	—	—	$^1/_{500}$	Wie No. 4171
+ 3. Tag	+	+	±	$^1/_{500}$	Wie No. 5165
—	±	—	—	0	
+ 3. Tag	—	—	—	$^1/_{500}$	Nach der Symbiose der Sarcina lutea läßt sich vom Choleraserum $^1/_{10000}$ agglutinieren
—	—	—	—	$^1/_{400}$	Wie No. 4170
—	±	—	—	0	3. 9. läßt sich vom Choleraserum $^1/_{2000}$ agglutinieren, ebenso wie vom Serum 5528
—	—	—	—	0	Wie M
—	—	—	—	0	Wie M, läßt sich vom Serum M bis zu der Titergrenze agglutinieren
—	±	—	—	0	
—	—	—	—	0	Wie M und T
—	—	+	—	$^1/_{200}$	Läßt sich vom Serum M bis zu der Titergrenze agglutinieren

Für einige unserer „choleraähnlichen" Stämme ist die Agglutinierbarkeit spontan nach einer Reihe von Züchtungen gesteigert.

No. 3541, der am 28. Juni sich kaum $^1/_{1000}$ agglutinieren ließ, gab am 10. Jan. eine deutliche Agglutation $^1/_{4000}$.

No. 3863, der am 8. Juli sich nur $^1/_{1000}$ agglutinieren ließ und alle anderen Merkmale des echten Choleravibrio besaß, gab am 17. Jan. die Agglutination $^1/_{10000}$.

No. 3869, der am 8. Juli sich nur $^1/_{500}$ agglutinieren ließ, gab am 5. Nov. auch die Agglutination $^1/_{10000}$.

No. 4012, 1. Juli $^1/_{1000}$, 25. Dez. $^1/_{10000}$.

No. 4910$_2$, 8. Aug. $^1/_{1000}$ (atypisch mit mehreren Geißeln), 17. Jan. $^1/_{4000}$.

Es ist wahrscheinlich, daß es sich in diesen Fällen um Choleravibrionen handelte, die keine tiefen Veränderungen (partielle Atrophie der Rezeptoren) in ihrer chemischen Struktur erlitten haben, und rasch, „sublata causa", ihren normalen Bau auf gut geeigneten Nährmedien (gewöhnlichem Agar-Agar, Nährmedium von Löffler) wiederherstellen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es gelingt im Gegenteil nur selten, mit den Vibrionen, die bedeutend von dem Grundtypus abweichen, solche Resultate in diesen Verhältnissen zu erzielen.

Sehr günstige Resultate in diesem Sinne hat das Zusammensein mit der schon erwähnten Sarcina lutea ergeben. Schon nach 1 Monate war die Agglutinierbarkeit bedeutend gesteigert. No. 3869 gab den positiven Ausfall der Agglutinationsprobe $^1/_{10000}$, während derselbe Stamm, einfach auf Agar gezüchtet, nur die Agglutination $^1/_{2000}$ ergab. Dasselbe Resultat wurde unter diesen Verhältnissen für eine ganze Reihe von ganz atypischen Vibrionen von Genesenden erlangt (No. 4170, 4171, 4373, 4650, 5526, 5528, 5875_2) und für einige atypische Vibrionen von Kranken (No. 5240, 5608). Die wiedergewonnene Eigenschaft war sehr beständig, denn noch nach 8 Monaten verhielten sich diese Stämme typisch gegen das spezifische Serum. Einige Stämme, wie 4171, 4650, 5528, 5608, geben auch nachher die Nitrosoindolreaktion; die proteolytische Wirkung aber bleibt immer aus.

Diese Symbiose bedingt auch die recht bedeutende Steigerung der Virulenz der Vibrionen, wovon unten noch die Rede sein wird.

Die Versuche der Kreuzagglutination haben auch die Choleranatur der meisten von unseren atypischen Vibrionen nachgewiesen.

Wir werden kurz die Resultate dieser Versuche erörtern.

Die agglutinierenden Sera wurden von Kaninchen geliefert, die durch mehrmalige Einspritzungen lebender Kulturen in die Ohrvene immunisiert waren.

I. Serum des Kaninchens, das gegen den echten Choleravibrio No. 5178 immunisiert war. Nach 4 Einführungen in 2 Wochen ist der Titer des Serums $^1/_{10000}$.

No. 5178, aus den Reisstühlen des Cholerakranken gezüchtet, hat den normalen Bau, eine einzige endständige Geißel, und entwickelt sich üppig auf Agar, verflüssigt Gelatine nicht, wächst in Milch, ohne Kaseingerinnung hervorzurufen, gibt eine deutlich ausgesprochene Nitrosoindolreaktion, hämolysiert Hammelblut und ergibt positive Resultate bei der spezifischen Komplementablenkung; die Agglutination mit dem Choleraserum von Schurupow fällt positiv aus $^1/_{10000}$. Die Virulenz ist wenig ausgesprochen; nach der Einführung von 2 Oesen in die Ohrvene eines Kaninchens treten keine Symptome ein.

Das Serum 5178 agglutiniert auch andere typische Choleravibrionen; für einige derselben aber, die sich vom Choleraserum von Schurupow $^1/_{10000}$ agglutinieren lassen, erweist sich die Agglutination mit dem Serum 5178 nur $^1/_{4000}$ positiv; für No. 5165 und 5240 dagegen, die sich vom Serum von Schurupow nur $^1/_{500}$ agglutinieren ließen, erweist sich die Agglutinationsprobe mit dem Serum 5178 sogar $^1/_{4000}$ positiv; 3716, der sich vom Serum von Schurupow sogar $^1/_{100}$ nicht beeinflussen ließ, läßt sich vom Serum 5178 $^1/_{500}$ agglutinieren (es ist bemerkenswert, daß das normale Kaninchenserum keine Agglutinine für die Choleravibrionen enthält, während das normale Pferdeserum sie noch in der Verdünnung $^1/_{50}$—$^1/_{100}$ beeinflussen kann). Endlich fällt für No. 5534, der zu den atypischen Vibrionen der Genesenden gehört und sich vom Serum von Schurupow nur $^1/_{500}$ agglutinieren läßt, die Agglutinationsprobe mit dem Choleraserum 5178 sogar $^1/_{2000}$ positiv aus, was natürlich für die Choleranatur des verwendeten Stammes spricht.

Alle diese Ergebnisse scheinen den Beweis zu liefern, daß die Choleravibrionen hinsichtlich ihrer Agglutinin bindenden und Agglutinin erzeugenden Funktion eine ebensowenig homogene Gruppe vorstellen, wie bezüglich der morphologischen und biochemischen Merkmale.

Das agglutinierende Choleraserum, das mit einem bestimmten Cholerastamme hergestellt ist, beeinflußt alle Cholerastämme nicht ganz gleich, wie es schon Oya 1904 annahm, wogegen ein gegebener Cholerastamm gegen verschiedene mit verschiedenen Cholerastämmen hergestellte

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sera sich nicht identisch verhält. Dieser Versuch beansprucht noch das Interesse im Sinne des Ueberganges der Antikörper der Mutter während der Schwangerschaft ins Blut der Jungen. Das Blutserum des Jungen, das bald nach dem Ende der Immunisierung geboren war, agglutinierte No. 5178 ebenso hoch und scharf wie das Blutserum der Mutter selbst.

II. Kaninchenserum, das mit No. 3716 hergestellt ist:

No. 3716 ist aus dem Stuhle einer gesunden Person gezüchtet, die in einem Hause wohnte, in dem 30 Cholerafälle unter den Mitbewohnern vorgekommen waren. Der Vibrio hat die normale Morphologie (mit Neigung, Involutionsformen zu bilden), hat eine Polgeißel, wächst üppig auf Agar, wobei die Kultur sich gelblich färbt, verflüssigt Gelatine schon am 2. Tage, erzeugt Kaseingerinnung, gibt nicht die Nitrosoindolreaktion, hämolysiert Hammelblut, ist komplementablenkend, läßt sich nicht vom Choleraserum von Schurupow sogar $^1/_{100}$ agglutinieren, und vom Choleraserum 5178 nicht höher als $^1/_{500}$. Die Virulenz (8 Monate nach der Züchtung geprüft) erweist sich negativ, denn eine ganze Agarkultur, die in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens eingeführt wurde, erzeugt keine sichtbare Erkrankung, und schon nach 18 Std. sind die Vibrionen darin zugrunde gegangen. Die agglutinineerzeugende Eigenschaft dieses Stammes ist gering, denn zur Herstellung des Serums mit dem Titer $^1/_{2000}$ waren 8 Einspritzungen nötig; die darauffolgenden Einführungen der Kultur brachten keine Steigerung des Titers.

Das Serum agglutiniert den typischen Choleravibrio 4293 bis zu der Titergrenze, ferner den atypischen 3725, außerdem die atypischen, schon oben erwähnten 3863 und 3869.

Dieser Versuch ergab also ein positives Resultat, und wies die Choleranatur des verwendeten atypischen Stammes 3716 und auch von No. 3725 nach; für die 2 übrigen war sie schon vorher aufgeklärt.

Wie soll man nun derartige Ergebnisse vom theoretischen Standpunkte aus begreifen? Wir haben schon die schwache agglutinogene Funktion dieses Stammes bemerkt, welche, wie man annimmt, denselben Teilen der Bakterienzelle innewohnt, die Agglutinine binden, den Rezeptoren.

Es liegt der Gedanke nahe, zu meinen, daß es sich in diesem Falle um die partielle, sehr bedeutende Atrophie der Rezeptoren handelt, wobei die bleibenden, die nicht mehr für die Bindung der Agglutinine genügen, noch hinreichen, um im Organismus, wo das Gesetz der multiplen Reaktion wirkt, Agglutinine zu erzeugen; qualitativ sind diese Agglutinine sowie die Rezeptoren selbst nicht geändert, und die Kreuzagglutination ergibt ein positives Resultat.

III. Serum des Kaninchens, das mit dem Stamme 5534 immunisiert ist:

Nach 6 Einführungen ist der Titer $^1/_{4000}$.

Der Stamm 5534 ist aus den Faeces einer Person am Ende des Choleraanfalles (am 11. Tage gezüchtet, am 2. Tage wurde im Stuhle der echte typische Choleravibrio No. 5393 nachgewiesen).

No. 5534 ist dünn, wenig gekrümmt, hat eine endständige Geißel, wächst relativ spärlich auf Agar; verflüssigt Gelatine nicht, wächst in Milch, ohne sichtbare Veränderungen des Nährmediums hervorzurufen, bildet kein Nitrosoindol, hämolysiert Hammelblut nicht, ist nicht komplementablenkend, läßt sich vom Serum von Schurupow nur $^1/_{500}$ agglutinieren, vom Choleraserum 5178 aber, wie oben erwähnt, $^1/_{9000}$. Das normale Pferdeserum agglutiniert ihn in der Verdünnung $^1/_{100}$. Er ist gar nicht virulent, denn eine ganze Agarkultur (wegen des spärlichen Wachstums entspricht diese Quantität ungefähr $^1/_2$ Agarkultur des typischen Choleravibrio) in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens eingeführt, ruft keine Erkrankung hervor; das Kaninchen erträgt die intravenöse Einführung einer $^1/_2$ Agarkultur wohl.

Das Serum No. 5534 agglutiniert bis zur Titergrenze eine ganze Reihe unserer atypischen Vibrionen, namentlich 9, die bei Genesenden gefunden waren, nämlich 4170, 4171, 4301, 4373, 4650, 5143, 5185, 5526 und 5528, und 2, die von Kranken stammen 4620, 5850.

Die typischen Choleravibrionen lassen sich aber sehr wenig von diesem Serum beeinflussen — $^1/_{200}$—$^1/_{500}$, so daß die Kreuzagglutination ein negatives Resultat ergibt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Daß eine ganze Reihe unserer atypischen Vibrionen sich von diesem Serum im hohen Maße beeinflussen läßt, beansprucht besonderes Interesse. Es läßt sich daraus schließen, daß diese Gruppe höchst homogen ist, was natürlich gegen die Hypothese, daß alle diese Befunde einen gelegentlichen Charakter haben, spricht.

Wir wissen bereits, daß No. 5534 sich vom Choleraserum 5178 $^1/_{2000}$ agglutinieren ließ, und daß manche dieser atypischen Vibrionen, die sich vom Serum 5534 im hohen Maße beeinflussen lassen, ihre Agglutinabilität durch Choleraserum nach dem Zusammenwohnen mit Sarcina lutea wiedergewonnen haben.

Alle diese Angaben, wie auch noch andere (vergl. unten die Versuche IV und V und Pfeiffers Versuche) sprechen dafür, daß No. 5534 nichts anderes als ein atypischer Choleravibrio ist; sie lassen auch mit den anderen derartigen Angaben an der Bedeutung der Kreuzagglutination für die Diagnose, falls diese negativ ausfällt, zweifeln.

Zu demselben Schlusse sind auch einige Forscher, wie Besserer und Jaffe z. B. bezüglich des Pfeifferschen Versuches gekommen.

Es drängt sich die Frage auf, wie derartige Ergebnisse theoretisch gedeutet werden sollen. Es ist wahrscheinlich, daß es sich hier um eine bedeutende qualitative Aenderung der Rezeptoren handelt, während die quantitativen Verhältnisse fast dieselben bleiben, wie die Erhaltung der agglutinogenen Funktionen es zu beweisen scheint. Aber — und diese Besonderheit bildet einen radikalen Unterschied zwischen diesen atypischen Choleravibrionen und den anderen Vibrionenarten, die mit der Cholera nichts zu tun haben — solche atypische Stämme können unter gewissen Umständen die verlorenen Eigenschaften wiederbekommen und lassen sich dann unter anderem normal vom Choleraserum agglutinieren.

Analoge Ergebnisse finden wir in den oben erwähnten Arbeiten von Bordet und Sleeswijk, Sobernheim, Kirstein, Defalle.

Dies alles scheint einen Beweis dafür zu liefern, daß der Rezeptorenapparat der Bakterienzelle unter verschiedenen Umständen bedeutende Aenderungen erleidet, ohne daß die Lebensfähigkeit der Zelle darunter leidet und der Tierorganismus mit wunderbarer Empfindlichkeit auf die geringsten Modifikationen der chemischen Struktur der Bakterienzelle, namentlich der Rezeptoren, reagiert. Diese große Empfindlichkeit, die freilich den hohen Wert dieser Reaktion für die Diagnose wegen ihrer Spezifizität für die Bakterienarten bedingt, scheint jedoch in einigen Fällen das erwünschte Ziel zu übertreffen, namentlich wenn es sich um die gelegentlichen, inkonstanten Abweichungen vom Grundtypus handelt.

Wir meinen, daß es möglich sein würde, einige mangelhafte Seiten dieser für die Diagnose so wichtigen Reaktion leicht zu korrigieren. Dafür wäre es zweckmäßig, entweder ein spezielles Serum für solche atypische Vibrionen herzustellen, natürlich unter der strengen Bedingung, daß der zur Immunisierung angewendete Stamm seine echte Choleranatur durch Wiedergewinnung der spezifischen Agglutinierbarkeit an den Tag bringt, oder es empfiehlt sich, das polyvalente oder das „multipartielle" Serum anzufertigen, welches möglichst verschiedene partielle Agglutinine der Choleravibrionen enthält.

IV. Das Serum des Kaninchens, das mit No. 5528 immunisiert ist. Nach 4 Einführungen ist der Titer $^1/_{5000}$.

No. 5528, ebenso No. 5534 ist aus dem Kote des genesenden Menschen gezüchtet, der während der Erkrankung den echten Choleravibrio No. 5422 enthalten hatte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Vibrio 5528 hat dieselben Merkmale wie No. 5534.

Das Serum 5528 verhält sich gegen die anderen Vibrionen der Genesenden ganz wie das Serum 5534, namentlich agglutiniert es bis zu der Titergrenze alle Vibrionen dieser Gruppe, die auch vom Serum 5534 sich agglutinieren lassen.

Was die Resultate der Kreuzagglutination betrifft, so erlauben sie keine bestimmte Schlußfolgerung; einige der typischen Cholerastämme, wie 5178, lassen nach 2 Stunden eine feine, aber ganz deutliche Agglutination in der Verdünnung $^1/_{1000}$ sehen; aber nach 18 Stunden ist die Flüssigkeit wieder homogen, getrübt, so daß das Resultat eher für negativ gelten muß.

Zu diesem Versuche hatten wir noch einige atypische Stämme heranzuziehen Gelegenheit, welche, wie es erwiesen ist, ein wichtiges Zwischenglied zwischen den typischen und atypischen Choleravibrionen darstellen.

Diese Vibrionen wurden uns von Dr. Kulescha zur Verfügung gestellt, der sie aus dem Stuhle von gesunden Menschen gezüchtet hatte.

Diese Vibrionenstämme, die in unserer Kollektion mit den Buchstaben L, M, K, T, F und Ch bezeichnet sind, haben normale Morphologie, mehrere Geißeln, sie verflüssigen Gelatine nicht, und wachsen in Milch, ohne Kaseingerinnung hervorzurufen. M und F bilden Nitrosoindol, obgleich in geringem Maße; bei den übrigen ist die Reaktion negativ. Nach der Züchtung, auch im Juni, ergibt die Agglutinationsprobe mit dem Choleraserum negative Resultate, sogar in der Verdünnung $^1/_{100}$, was ebenso von Dr. Kulescha, wie von den Bakteriologen des Munizipal-Laboratoriums konstatiert wurde.

Bei der Prüfung am 3. Sept. ergaben M, K und Ch, die während dieser Zeit auf Agar kultiviert wurden, mit demselben Choleraserum eine rasche und scharfe Agglutination $^1/_{2000}$, T $^1/_{1000}$, F $^1/_{500}$. Dieses Resultat wurde auch mehrmals (nicht weniger als 20mal) von Dr. Kantzel und von uns im Munizipallaboratorium kontrolliert. Das normale Pferdeserum agglutiniert sie $^1/_{10}$. Deswegen sollte man annehmen, daß in diesem Falle wir es noch mit echten Cholerastämmen, (wenigstens was M, K und Ch anlangt) zu tun haben, die aber im Momente der Züchtung sehr degeneriert waren.

Diese Stämme wurden mit dem Serum No. 5528 geprüft und lassen sich von ihnen ebensogut agglutinieren, wie vom Choleraserum von Schurupow, nämlich $^1/_{2000}$, indem die Reaktion ebenso rasch und deutlich zutage tritt, wie im Röhrchen mit Choleraserum.

Daraus glauben wir den Schluß ziehen zu dürfen, daß die Agglutinine der beiden Sera und eo ipso die Rezeptoren beider Vibrionen, die sie im Blutserum erzeugt haben, einander so nahe stehen, daß es natürlich ist, diese Vibrionen als Vertreter einer und derselben Bakterienart anzusehen.

Mit diesem Vibrionenstamm No. 5528 haben wir einige Versuche der Zerlegung in die einzelnen Kolonieen ausgeführt, die zeigen, daß dieser Vibrio eine Uebergangsrasse ist, die stets einen Evolutionsprozeß erduldet und folglich aus Individuen besteht, die nicht absolut identisch untereinander sind.

Die Kultur, die aus einer einzelnen Kolonie stammte, läßt sich, wie gesagt, $^1/_{500}$ vom Choleraserum agglutinieren; wenn sie aber auf den Platten in die einzelnen Kolonieen 1, 2, 3 usw. zerlegt wird, so erweist es sich, daß die Kulturen 1, 2, 3 sich vom Choleraserum $^1/_{1000}$ beeinflussen lassen, die Kulturen 4, 5 sogar $^1/_{2000}$, die meisten aber $^1/_{500}$.

3 Wochen später hat 5528_5, die während dieser Zeit auf Agar über-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tragen wurde, ihre Agglutinierbarkeit wieder ein wenig eingebüßt, und wird nur $^1/_{500}$ vom Choleraserum agglutiniert.

Die meisten der einzelnen Kolonieen lassen sich auch nur $^1/_{500}$ agglutinieren, $_1 5528_5$ und $_2 5528_5$ jedoch $^1/_{1000}$.

Das durch No. 5528 selbst hergestellte Serum beeinflußt auch nicht in gleichem Maße diese Tochterkulturen, indem einige sich von ihm bis zu der Titergrenze agglutinieren lassen, während die anderen, nämlich $_1 5528_5$ und $_2 5528_5$ nur die Agglutination $^1/_{2000}$ zeigen.

V. Das Serum des Kaninchens, das mit dem Stamm M immunisiert ist (siehe Versuch IV). Nach 4 Einführungen ist der Titer $^1/_{5000}$. Das Serum agglutiniert bis zu der Titergrenze dieselben atypischen Vibrionenstämme, die schon von den Sera 5534 und 5528 sich agglutinieren ließen, auch die Stämme K, T, F, Ch und 2702 (siehe die Tabelle). Bemerkenswert ist aber, daß die Agglutinationsprobe für die typischen Choleravibrionen mit dem Serum M $^1/_{1000}$ negativ ausfällt. Es darf auch nicht außer acht gelassen werden, daß die Sera, wie M und 5528 in gleichem Maße die Vibrionenstämme mit einem einzigen und mit mehreren Geißeln beeinflussen; dies scheint den Beweis dafür zu liefern, daß die Zahl der Geißeln ein ungenügendes Kriterium für die Differenzierung der Bakterienarten darstellt. In dieser Weise wird eine ganze Reihe von atypischen Vibrionenstämmen, die aus den Faeces verdächtiger Kranker, Genesender nach der Choleraerkrankung und gesunder Personen, die im Herde der Cholerainfektion wohnten, stammten, in eine einzige Gruppe vereinigt. Diese Ergebnisse, wie die Agglutinierbarkeit von No. 5534 $^1/_{2000}$ vom Choleraserum 5178 die Agglutinierbarkeit eines anderen Gliedes dieser Gruppe, des Vibrio M $^1/_{2000}$ vom Choleraserum von Schurupow und die Steigerung der Agglutinabilität unter gewissen Umständen, namentlich im Zusammensein mit der Sarcina lutea, sprechen für die Choleranatur aller Vertreter dieser Gruppe.

In gleichem Sinne fiel auch der Pfeiffersche Versuch aus, der mit einigen dieser Stämme ausgeführt wurde.

Die Ausführung dieses Versuches bietet für diese Stämme überhaupt viele Schwierigkeiten dar wegen ihrer geringen Virulenz, denn die Vibrionen gehen, selbst in großen Dosen in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens eingeführt, schon am ersten Tage zugrunde.

Die gewöhnliche Methode der Passage würde zu viel Zeit und eine große Anzahl von Tieren verlangen.

Es ist aber möglich, die Resistenzfähigkeit dieser Vibrionen durch verschiedene künstliche Verfahren bedeutend zu heben. Zlatogorow hat zu diesem Zwecke die gleichzeitige Einführung einer getöteten Coli-Bacillenkultur verwendet, welche die Resistenzkraft des Organismus abschwächt und so den Vibrionen die Möglichkeit gibt, sich darin zu vermehren.

Sehr zweckmäßig erweist es sich, den Einfluß der Sarcina lutea auf die Vibrionen für dieses Ziel zu benutzen.

Der Stamm 5534, der, wie gesagt, keine Erkrankung, selbst in der Dosis einer Agarkultur, hervorruft, tötet aber Meerschweinchen, wenn gleichzeitig 2 ccm einer 7-tägigen Bouillonkultur der Sarcina lutea eingeführt werden, welche an und für sich keine pathogene Wirkung ausübt. Bei der Obduktion läßt sich feststellen, daß es sich um eine echte gemischte Infektion handelt, da im Herzblute ebenso wie im Bauchexsudate sich mittelst Kultur der Vibrio und die Sarcina nachweisen lassen. Dasselbe Resultat ergibt sich unter denselben Umständen mit anderen atypischen Vibrionen 5342, 6175 usw.

Der Vibrio, der aus dem Exsudate des toten Meerschweinchens ge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

züchtet wurde, wohnt bei der Passage schon länger im Organismus; nach 24 Std. läßt sich aus dem Bauchexsudate, durch Punktion gewonnen, Reinkultur des Vibrio züchten.

Diese Kultur wurde zum Pfeifferschen Versuche verwendet.

Nach der Einführung 1 Oese mit 1 mg bakteriolytischen Choleraserums (nicht Pferde-, sondern Kaninchenserum, da das Pferdeserum selbst in normalem Zustande uns in einigen Fällen die Bakteriolyse nicht nur mit den atypischen, sondern auch mit den typischen echten Cholerastämmen ergab, was mit dem normalen Kaninchenserum niemals stattfindet) ließ sich schon nach 30 Min. im entnommenen Tropfen des Exsudates deutliche Bakteriolyse nachweisen. Wenn aber statt des Choleraserums die 50-fache Dosis von normalem Kaninchenserum eingeführt wird, so lassen sich im Tropfen lebhaft bewegliche Vibrionen nachweisen, die sich auf Agar in Reinkultur züchten lassen.

In einem anderen Falle haben wir für den Pfeifferschen Versuch den atypischen Stamm 4171 verwendet, dessen Virulenz nach einer einmonatlichen Symbiose mit der gelben Sarcine so gesteigert war, daß $^1/_4$ der Oese ein Meerschweinchen von 370 g binnen 3 Tagen tötet.

Nach der Einführung 1 Oese dieser Kultur mit 1 mg Choleraserum in 1 ccm Bouillon läßt sich nach 30 Min. intensive Bakteriolyse nachweisen, die mit Exsudat geimpften Röhrchen sind steril und das Meerschweinchen bleibt ganz gesund; das Meerschweinchen aber, das 1 Oese derselben Kultur mit $^1/_4$ ccm normalen Kaninchenserums in 1 ccm Bouillon bekommen hat, ist schon nach 7 Std. tot; 30 Min. nach der Einführung lassen sich im Exsudat zahlreiche bewegliche Vibrionen nachweisen, die sich in Reinkultur auf Agar züchten lassen.

In dieser Weise haben wir noch einen Beweis der Choleranatur der Vibrionengruppe, zu der diese zwei Stämme gehören:

Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß manche der atypischen Vibrionen, die sich während einer Choleraepidemie aus dem Darminhalt züchten und in diesem Momente sich vom Choleraserum nicht agglutinieren lassen, doch Choleravibrionen, wenn auch degenerierte, sind.

Wo und unter welchen Einflüssen geht nun diese Degeneration vor sich? Das bemerkenswerte Ergebnis, daß solche degenerierte Vibrionen öfters im Darme von Genesenden vorkommen, wo sie an die Stelle typischer Choleravibrionen zu treten scheinen, und ferner experimentelle Ergebnisse über die Variationen des typischen Cholerastammes nach einem längeren Aufenthalte im Organismus (Zlatogorow) lassen aussagen, daß diese Degenerationserscheinungen im Tierorganismus selbst stattfinden, welcher während der Genesung, vielleicht infolge der Anhäufung der spezifischen Immunkörper im Blutstrome, nicht mehr ein geeignetes Medium für den Vibrio ist.

Ob diese Erscheinung auch in der Natur, während der saprophytischen Lebensweise der Vibrionen, auftreten kann, dafür haben wir bis jetzt noch keine Beweise. Es gelang bekanntlich einigen Forschern, wie Zlatogorow und Barrenschen, experimentell die Agglutinabilität der Choleravibrionen durch spezifisches Serum durch längeres Waschen bedeutend herabzusetzen, woraus der erstere Forscher schloß, daß solches „Auswaschen der Rezeptoren" auch in den Flüssen stattfinden könne.

Aber in diesen Versuchen wirken immer Momente mit, die ein intensives Zerfallen der Vibrionen verursachen (mehrtägige Autolyse, längeres Zentrifugieren) weswegen es sich hier kaum um Vererbung der neugewonnenen Eigenschaften, d. h. Entstehung einer neuen Varietät, handeln kann. Bei derartigen Untersuchungen hat Köhlisch die Beobachtung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gemacht, daß, wenn auch die Agglutinabilität der Choleravibrionen nach langem Auswaschen etwas herabgesetzt wurde, sie in der zweiten Generation schon wieder normal war. In den Versuchen von Jirnow konnte geringere Agglutinabilität der Choleravibrionen nach einem langen Aufenthalte im Wasser nicht konstatiert werden. Wir haben auch an einem Choleravibriostamme, der im Wasser im Laboratorium 11 Monate lang seine Lebensfähigkeit bewahrt hat, nicht die mindeste Aenderung der Agglutinabilität bemerkt. Sie blieb auch unverändert bei 3-stündigem Waschen und Zentrifugieren, ebenso wie auch beim Waschen durch Kerze sub vacuo, obgleich die Waschwässer mit Choleraserum Präzipitat bildeten, was von der partiellen Auslaugung einiger Bestandteile der Vibriozelle zeugt.

Ueberhaupt haben wir noch keine bestimmten Ergebnisse, die für die Variabilität des typischen Choleravibrio außerhalb des tierischen Organismus sprechen.

Die Forschungen auf dem Gebiete der atypischen choleraähnlichen Vibrionenarten rufen natürlich den Eindruck hervor, daß es für solche polymorphe und variable Bakterienarten, wie die Choleravibrionen, öfters nicht möglich ist, auf Grund der Eigenschaften, die sie in einem gegebenen Momente besitzen, eine einwandfreie Diagnose zu machen. Die lebende Bakterienzelle ändert sich beständig (in gewissen Grenzen natürlich) unter dem Einflusse der verschiedenen Lebensbedingungen: indem ihre Leistungen tiefe Veränderungen in den höheren Organismen hervorrufen, erduldet sie selbst bedeutende Wandlungen, wenn an Stelle der saprophytischen die parasitischen Lebensbedingungen treten und umgekehrt, indem auch ihr Kampf mit den Schutzkräften des kranken Organismus mit dessen Genesung endigt.

Das Gesetz der Umwandelbarkeit, das überall in der lebenden Natur wirkt, gilt in vollem Maße auch auf dem Gebiete der Bakterien, wo die relative Einfachheit der biochemischen Prozesse die Wirkung in kurzen Zeiträumen zu beobachten erlaubt.

Vom Standpunkte der allgemeinen Mikrobiologie sprechen derartige Ergebnisse unseres Erachtens nicht im mindesten gegen die Lehre von den Bakterienarten und gegen die Spezifizität der pathogenen Wirkung. Es handelt sich doch immer um Umwandlungen, die nicht die Grenzen zwischen zwei scharf getrennten Arten überschreiten.

Vom praktischen Standpunkte aus aber können die Beobachtungen der letzten Jahre über die Umwandlungen der pathogenen Bakterienarten nicht unerheblich die Diagnosefrage und auch die der Epidemiologie beeinflussen.

Bezüglich der Diagnosefrage sind sie natürlich wenig tröstlich, da sie selbst an einem Kriterium, wie die Agglutinationsprobe, welche Kenner der Cholerafrage, wie Prof. Kolle, für ideal sicher hielten, zweifeln lassen, nämlich in den Fällen, wo sich ein negatives Resultat ergibt. Glücklicherweise aber sind diese Fälle relativ selten (unter 2792 Befunden, die im Munizipallaboratorium während der Epidemie gemacht wurden, waren die atypischen Vibrionen, die sich schwach oder gar nicht mit Choleraserum agglutinieren ließen, nur in 118, resp. 4,3 % gefunden.

Es ist auch zu hoffen, daß die Ausarbeitung einer rascheren und sichereren Methode für die Wiederherstellung der normalen Eigenschaften der atypischen Choleravibrionen, als die jetzigen, nicht lange auf sich warten lassen wird.

In bezug auf die Epidemiologie erlauben diese experimentellen Ergebnisse den Verlauf der Choleraepidemie in Petersburg im folgenden darzulegen: Der Choleravibrio, der 1907 nach Petersburg von der Wolga aus kam, bedingte die ersten Cholerafälle, und mit den Faeces der Kranken wurde das Trinkwasser, was natürlich von der antisanitären Lage der Ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sorgung mit Wasser abhängt, infiziert. In den Fällen, wo die Erkrankung rasch verläuft, kehrt der Vibrio in die äußere Welt, namentlich ins Newawasser, mit allen seinen typischen Merkmalen zurück, wieder in anderen Fällen, wo der Vibrio länger im Organismus lebt, besonders während der Genesung, nimmt der Kampf des Organismus mit den Vibrionen damit ein Ende, daß die letzteren zugrunde gehen, oder tief degeneriert werden.

Diese Degeneration, ebenso wie die allmähliche Immunisation der Bevölkerung, macht dem Choleraausbruche ein natürliches Ende. Die Epidemie würde sonst niemals ein Ende nehmen können, da die Lebensbedingungen der ärmsten Teile der Bevölkerung immer dieselben bleiben, ebenso wie die antisanitäre Lage der Hauptstadt in bezug auf die Wasserversorgung. Am Ende des Choleraausbruches werden atypische Vibrionen häufiger in den Faeces verdächtiger Kranken nachgewiesen, so wurden sie z. B. im September 1909 in 12 Fällen gefunden, resp. in 12 Proz. aller Befunde; am Ende des letzten Choleraausbruches im Oktober 1910 wurden im Irrenkrankenhause von St. Panteleus, einem wirklichen Choleraherde, in 43 Fällen atypische Vibrionen nachgewiesen, also auch in 12 Proz.

Die Befunde des typischen Choleravibrio im Newawasser, die äußerst häufig während der Epidemie waren, werden immer seltener, und es lassen sich nur schwach agglutinierende Vibrionen züchten. Im November 1909 haben wir den typischen Choleravibrio nur in 2 Fällen bei Kranken gefunden, im Januar 1910 in 1 Falle, und nachher ist die Epidemie scheinbar erloschen und der typische Choleravibrio scheint verschwunden zu sein. Aber es ist höchst wahrscheinlich, daß es in der Wirklichkeit anders vor sich geht, und der Vibrio, in seiner Virulenz und seiner Lebensfähigkeit abgeschwächt, etwas in seiner chemischen Struktur modifiziert, immer im Darme der Träger bleibt, deren Zahl sich steigert, während die der Kranken geringer wird. Auch kann der Vibrio im Wasser existieren, wo er sich in diesem atypischen Zustande natürlich nicht mehr erkennen läßt. Zuweilen lassen sich in dieser Zeit einige Fälle von akuter Gastroenteritis bemerken, deren einige sogar letalen Ausgang haben; aus den Faeces der Kranken gelingt es nur, die atypischen, schwach agglutinierbaren Vibrionen, wie der oben erwähnte 6175, zu züchten. Im Juni 1910 loderte wieder die Cholera auf, die nicht mehr von außerhalb kommt und in vollem Maße den traurigen Namen der Cholera russica verdient. Es ist wahrscheinlich, daß es genügt, wenn ein so abgeschwächter Choleravibrio, der aber in potentia alle seine Eigenschaften bewahrt hat, in besser geeignete Lebensbedingungen gelangt, z. B. in einen schwachen, kränklichen Organismus, oder in dem Organismus eines neu angekommenen, nicht immunisierten Arbeiters, die im Frühlinge scharenweise nach Petersburg kommen, oder wenn er noch im Darme Bakterienarten findet, die ihm ermöglichen, seine verlorenen Eigenschaften wiederzugewinnen, und dann seine wahre Natur durch seine pathogene Wirkung und bei der bakteriologischen Untersuchung erkennen zu lassen.

Es versteht sich von selbst, daß dieser Versuch, den Gang der Epidemie in dieser Weise aufzuklären, noch nicht die Grenzen einer bescheidenen Hypothese überschreitet, aber es ist wahrscheinlich, daß man in dieser Richtung die Aufklärung mancher Besonderheiten finden wird, die sich in der Epidemiologie der Cholera beobachten lassen.

Schlußfolgerungen.

1) Während der Choleraepidemie lassen sich zuweilen aus den Faeces der Kranken, nach dem Cholerafalle Genesenden und von Gesunden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vibrionen züchten, die sich nicht von spezifischen Choleraagglutininen beeinflussen lassen und trotzdem sich als Choleravibrionen erweisen.

2) Einige dieser atypischen Cholerastämme, die die meisten Kennzeichen der typischen Choleravibrionen bewahren, erzeugen bei Immunisierung Serum, das die letzteren agglutiniert; die anderen, die sich besonders oft bei Genesenden nachweisen lassen und bedeutend vom Grundtypus abweichen, ergeben bei Kreuzagglutination negative Resultate; trotzdem können sie ihre Agglutinabilität durch Choleraserum spontan oder unter gewissen günstigen Umständen wiedergewinnen.

3) Eine große Anzahl atypischer, „choleraähnlicher" Vibrionen, die sich in den Faeces von Kranken, Gesunden und besonders Genesenden nach der Choleraerkrankung nachweisen lassen, wird mittels Agglutination zu einer homogenen Gruppe vereinigt.

4) Unter den typischen und atypischen tief veränderten Choleravibrionen existieren alle möglichen Uebergangsstämme.

5) Atypische Choleravibrionen sind nichts anderes als „Uebergangsstämme" und bestehen darum aus Individuen, die in biochemischer Hinsicht nicht identisch sind.

6) Die Entstehung atypischer Choleravibrionen findet wahrscheinlich im kranken Organismus selbst, der allmählich immunisiert wird, statt; es gibt bis jetzt keinen Grund, um die Degenerationserscheinungen von typischen Choleravibrionen in der äußeren Welt vorauszusetzen.

7) Die Choleravibrionen, die sich dem Choleraserum gegenüber typisch verhalten, sind nicht alle identisch in bezug auf die Morphologie, kulturelle und biochemische Eigenschaften; alle diese Merkmale sind variabel, wie auch der Rezeptorenapparat, der wahrscheinlich aus verschiedenen partiellen Rezeptoren besteht.

8) Das Choleraserum, das mit einem typischen Choleravibrio hergestellt ist, beeinflußt nicht in gleichem Maße alle Cholerastämme und umgekehrt.

9) Der negative Ausfall der Kreuzagglutinationsprobe spricht nicht entschieden gegen die Choleranatur des verwendeten Stammes.

10) Bei Immunisiernng während der Schwangerschaft wird das Blutserum von Jungen ebenso reich an Agglutininen wie das Blutserum der Mutter selbst.

11) Bakterielle Symbiose spielt eine wichtige Rolle in der Biologie des Choleravibrio. Das Zusammenwohnen mit der Sarcina lutea übt auf dessen Lebensfähigkeit und verschiedene biochemische Eigenschaften, wie Agglutinierbarkeit und Virulenz, einen sehr günstigen Einfluß aus. Zuweilen lassen sich Choleravibrionenkulturen unter diesen Umständen violett färben.

12) Während der Choleraepidemie müssen alle „choleraähnlichen" Vibrionen für höchst verdächtig gelten und in andere Verhältnisse gebracht werden, die, falls sie nur degenerierte Cholerastämme sind, ihre echte Natur an den Tag bringen können.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Eine neue Methode zur Chromatinfärbung.

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten Berlin
(Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky.
Abteilungsleiter: Prof. Dr. Jos. Koch).]

Von **Mentz von Krogh,** Assistenten am Institut.

In den folgenden Zeilen soll eine Methode zur Chromatinfärbung beschrieben werden, die leicht auszuführen ist und in bestimmten Fällen brauchbare Resultate liefert. Sie dürfte daher ein gewisses Interesse beanspruchen.

Die Methode besteht darin, daß die Schnitte in polychromem Methylenblau gefärbt, mit Chromsäure gebeizt und in Gerbsäure differenziert werden. Im einzelnen gestaltet sich die Technik folgendermaßen:

Das Material, das in möglichst dünne Schnitte zerlegt wird, wird zuerst, nachdem die Schnitte (Paraffin) aufgeklebt, von Paraffin und Xylol befreit sind, in

1) polychromem Methylenblau nach Unna (von Grübler bezogen) 5 Minuten gefärbt,

2) in Leitungswasser kurz abgespült,

3) in 2-proz. Chromsäure gebeizt 1—15 Minuten (siehe unten),

4) wiederum kurz abgespült,

5) in 5-proz. Gerbsäurelösung differenziert, bis die Schnitte hellblau erscheinen und einen rötlich-violetten Ton haben,

6) wiederum abgespült,

7) in absolutem Alkohol möglichst schnell entwässert, dann Xylol, Kanadabalsam.

Die verschiedenen Präparate von Gerbsäure differenzieren recht verschieden intensiv, und auch Präparate mit gleicher Benennung sind in ihrer Wirksamkeit nicht immer gleich. Deswegen muß die Zeit des Beizens mit der Chromsäure verschieden bemessen werden, was man am besten für jedes Gerbsäurepräparat ausprobiert. Die Schnitte sind, wenn in Methylenblau gefärbt, blau, mit einem Stich ins Violette. Durch die Chromsäure werden sie rein violett, sehen dann ungefähr so aus, als ob sie mit Gentianaviolett gefärbt wären. Durch die Gerbsäure müssen sie wieder bläulich werden, müssen aber einen violetten Ton behalten und möglich wenig in grün umschlagen; nur wenn sehr viel Bindegewebe im Präparat ist, darf hier ein grünlicher Ton auftreten. Sollte das Präparat durchweg grün werden, so ist es zu wenig chromiert. Sollte es den violetten Ton behalten, aber nicht heller werden wollen, so ist zu lange gebeizt worden.

Auch hängt die Zeit des Chromierens von dem zu färbenden Objekt ab.

Die Methode ist ursprünglich dazu benutzt worden, die von Jos. Koch beschriebenen kokkenähnlichen Gebilde in Gehirnschnitten lyssakranker Tiere zu färben[1]). Um diese darzustellen, muß lange chromiert werden, bei stark differenzierender Gerbsäure bis 15 Minuten. Gewöhnlich genügt es jedoch, etwa 5 Minuten zu beizen.

Protozoen dagegen (z. B. Lamblia, Amöben) werden am besten sehr kurz gebeizt; hier genügt gewöhnlich 1 Minute; dennoch ist es

1) Koch, Jos., Studien zur Aetiologie der Tollwut. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 66.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

öfters nötig, sie recht lange zu differenzieren, bis das Chromatin und die Geißeln sich deutlich von dem Körper abheben.

Bakterien im Schnitt färben sich meistens sehr gut. Die Beizung ist hier von dem Kernreichtum des Präparates abhängig. Sind sehr viele Kerne da oder auch sehr viele rote Blutkörperchen, so ist die Methode bei derartigem Material nicht zu empfehlen, weil Kerne und Blutkörperchen dann alles verdecken.

Die Methode hat sich bis jetzt am besten zur Färbung von Schnitten des Zentralnervensystems bewährt. Hier erscheint das Chromatin des Zellkernes dunkelblau, das Protoplasma der Ganglienzellen sowie die größeren Ausläufer derselben hellblau. Die Nisslsche Felderung ist deutlich blau, doch selten so dunkel wie die Kerne. Die Achsenzylinder sind violett, die roten Blutkörperchen verschieden stark violett. Bindegewebe ist meistens blaßgrünlich gefärbt.

Die Negrischen Körperchen sind deutlich braun-violett und heben sich durch ihre Farbenverschiedenheit und auch zuweilen durch die helleren Innenkörperchen, die in ihnen auftreten, deutlich von den blauschwarzen Chromatinmassen des Kernes ab. Die kokkenähnlichen Gebilde nach Jos. Koch zeigen bald die dunkle Farbe der Negrischen Körperchen, bald erscheinen sie viel blasser als lilagefärbte Gebilde.

Muskelfasern färben sich verschieden stark violett ohne deutliche Differenzierungen.

Zell- und kernreiche Gewebe werden meistens zu intensiv gefärbt. Auch für Blutausstriche eignet sich die Methode nicht.

Für Bakterien im Schnitt dagegen kann sie zuweilen sehr Gutes leisten. Auch schwerer färbbare Bacillen (Typhusbacillen) können leicht sichtbar gemacht werden, vorausgesetzt, daß das Gewebe nicht zu zellreich ist.

Zum Schluß soll nicht unerwähnt bleiben, daß sich mittels dieser Methode auch in einigen parenchymatösen Organen (Nieren, Ausführgänge der Speicheldrüsen) violett gefärbte Granula darstellen lassen. Hierüber habe ich jedoch keine näheren Untersuchungen angestellt.

Inhalt.

André, Emile, Pseudoparasitisme d'une nymphe d'Hydrachnide, p. 42.
Arnheim, G., Bemerkungen zu der Arbeit von N. Klimenko: „Bakteriologische Untersuchungen des Blutes von keuchhustenkranken Kindern und von mit Keuchhusten infizierten Tieren", p. 41.
Ascoli, Alberto, Die Präzipitindiagnose bei Milzbrand, p. 63.
Barlocco, Amerigo, Weitere Untersuchungen über den Einfluß des Diphtherietoxins auf den autolytischen Prozeß, p. 43.
v. Betegh, L., Vergleichende Untersuchungen über die Tuberkuloseerreger der Kaltblüter, p. 3.
De Gasperi, F., Bacillus pappulus, p. 1.
Hadley, Philip B. and **Amison, Elizabeth, E.,** Further studies on blackhead in turkeys, p. 34.
Horowitz, L., Zur Frage über die Diagnose der Choleravibrionen, p. 79.
Krägel, Ueber die Ruhragglutinine, insbesondere über ihr Verhalten in Krankenseren, p. 48.
Mentz von Krogh, Eine neue Methode zur Chromatinfärbung, p. 95.
Telle, H. u. **Huber, E.,** Kritische Betrachtungen über die Methoden des Indolnachweises in Bakterienkulturen, nebst einem Beitrage zur Frage der Indolbildung durch Typhaceen, p. 70.
Zlatogoroff, S. J., Ueber die Aufenthaltsdauer der Choleravibrionen im Darmkanal des Kranken und über die Veränderlichkeit ihrer biologischen Eigenschaften, p. 14.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

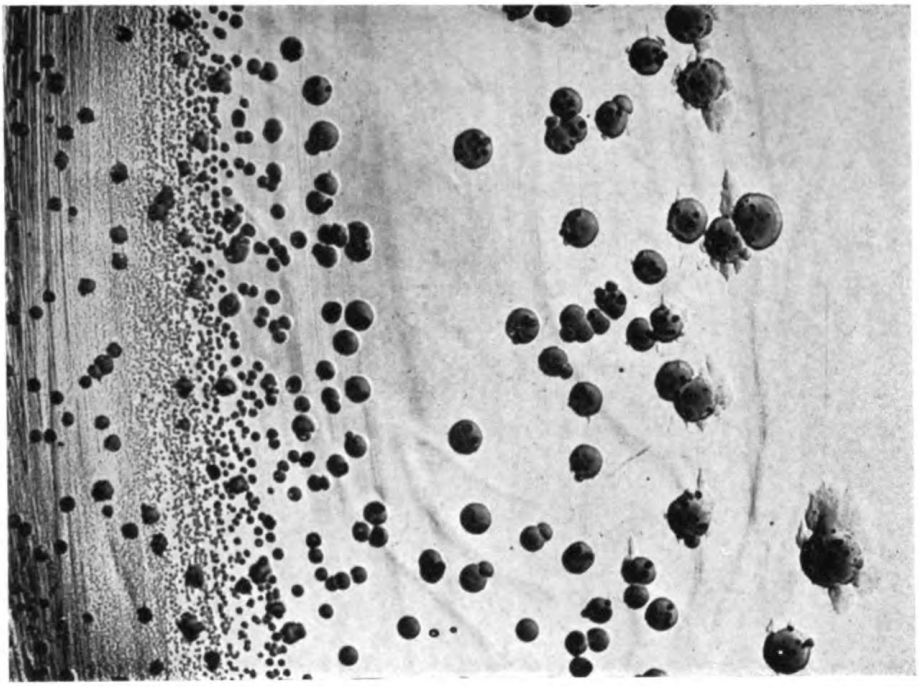


Fig. 1. $4^1/_2$ Tage alte Typhusaussaat auf Rhamnoseagar. Vergröß. 2 : 1.

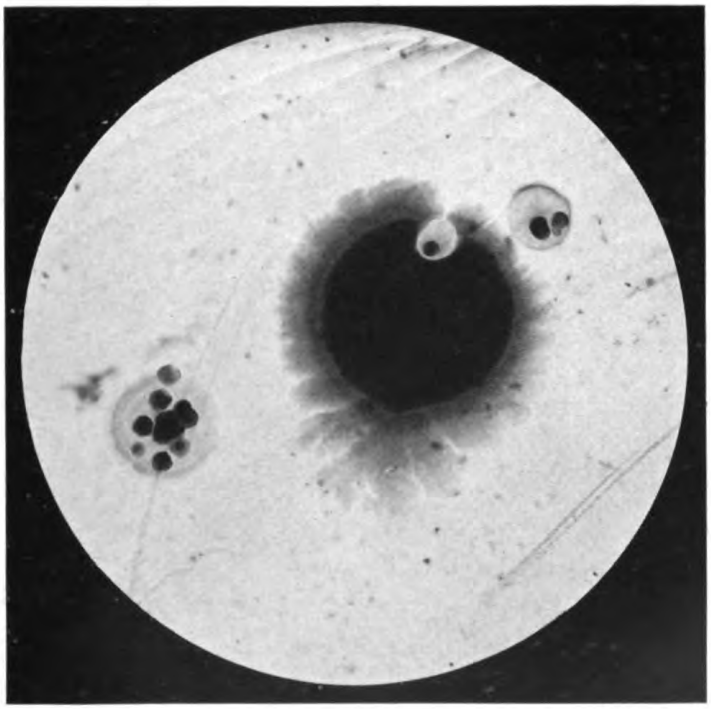


Fig. 2. Eine mutierte und drei mutierende Typhuskolonieen auf Rhamnoseagar. Vergröß. 5 : 1.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

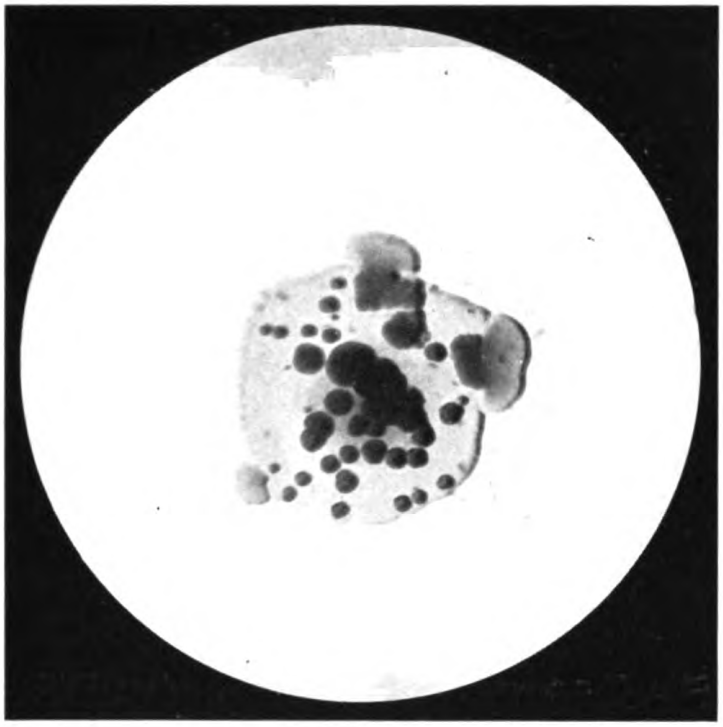


Fig. 3. Alleinstehende Typhuskolonie auf Rhamnoseagar, 4 Tage alt. Vergröß. 5 : 1.

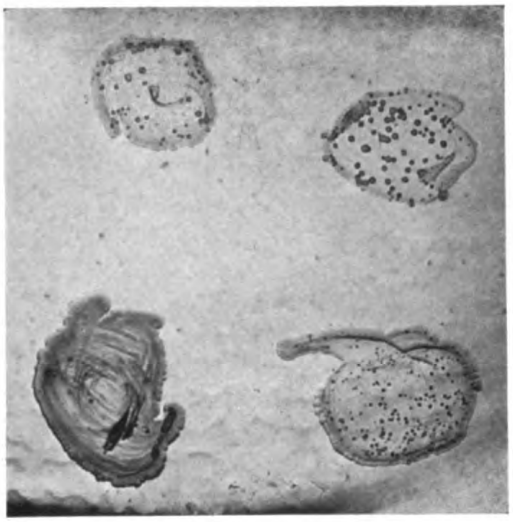


Fig. 4. Rasen eines typhusähnlichen Bakteriums und dreier Typhusstämme auf der gleichen Rhamnoseagarplatte, 4 Tage alt. Natürl. Größe.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 58. Heft 2.
Ausgegeben am 22. März 1911.

Nachdruck verboten.

Mutationen bei Typhus- und Ruhrbakterien.

Mutation als spezifisches Kulturmerkmal.

[Aus dem Hygienischen Institut in Kiel. Direktor: Geheimrat Prof. Dr. B. Fischer.]

Von Privatdozent Dr. **Reiner Müller.**

Mit 2 Tafeln.

Seit den Untersuchungen Massinis (1 u. 2) vom Jahre 1906 über „Bacterium coli mutabile" steht es fest, daß manche Bakterien, anscheinend ganz plötzlich, eine neue bestimmte Eigenschaft erwerben und sie auf ihre Nachkommen dauernd vererben können. Die Befunde Massinis sind von allen, die sie nachprüften, bestätigt worden. Nur über die Deutung dieser Vorgänge bestehen Meinungsverschiedenheiten. Es sei gar keine echte „Mutation" im Sinne von Hugo de Vries, wie Massini angenommen habe. Mir scheint das mehr ein Streit um ein Wort zu sein, der das Wesen dieser „Umwandlungen" nicht ändert. Dann hat Burri (3) neuerdings behauptet, die Erwerbung dieser neuen Eigenschaft erfolge gar nicht plötzlich ohne Zwischenstufen. Ich bezweifle nicht die von Burri beobachteten Kulturvorgänge, aber seine Deutung dieser Beobachtungen scheint mir nicht gerechtfertigt, der Beweis einer allmählichen Anpassung unter Bildung von Zwischenformen nicht erbracht. Ich hoffe, an anderer Stelle darauf eingehen zu können.

1908 habe ich eine vorläufige Mitteilung (4) gemacht, daß es mir gelungen ist, bei Typhusbakterien und bei Paratyphusbakterien ähnliche mutationsartige Vorgänge festzustellen; ich habe diese Beobachtungen auch in Photogrammen (5 u. 6) festgelegt. Diese Mutationen sind nicht zufällig aufgefunden, sondern in systematischen, langwierigen Versuchsreihen gesucht worden. Bei dem Bacterium coli mutabile wachsen bekanntlich Einzelkolonieen auf der Oberfläche milchzuckerhaltigen Agars zunächst ohne Säurebildung, also auf dem Endoschen Fuchsin-Natriumsulfit-Laktoseagar farblos. Vom 2. Tage an bilden sich aber in jeder genügend isoliert stehenden blassen Endo-Kolonie tiefrote Tochterkolonieen, und diese bestehen aus Bakterien, die, auf neuen Endo-Agar gebracht, sofort rote Kolonieen bilden und auch auf milchzuckerfreien Nährböden die einmal erworbene Fähigkeit der Laktosebildung dauernd behalten. Um festzustellen, ob in entsprechender Weise andere Bakterien die Vergärungsfähigkeit für andere Stoffe neu erwerben könnten, prüfte ich einige Hunderte Bakterienstämme, besonders der Typhus-Coli-Gruppe, auf 18 verschiedenen Kohlenhydratnährböden. Hier seien nur die Befunde bei Typhus- und Ruhrbakterien mitgeteilt.

I. Die Rhamnose-Mutation der Typhusbakterien.

Ich versetze den fertigen gebräuchlichen Nähragar mit 1 Proz. Rhamnose (Isodulzit), sterilisiere und gieße in Petri-Schalen. Auf der getrockneten Oberfläche streiche ich mit der Platinnadel Typhusbakterien so aus, daß auf einem Teile des Nährbodens recht weit von-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einander entfernte Kolonieen entstehen. Solche Kulturen halte ich 4—5 Tage bei 36°, wobei natürlich eine Austrocknung vermieden werden muß. Es ist aber nicht empfehlenswert, das Austrocknen durch völlige Abdichtung mit Paraffin oder Plastilin zu verhindern, weil sich dann stark riechende Stoffwechselprodukte ansammeln, die das Wachstum hemmen. Ich lege, wenn es nötig ist, etwas feuchte Watte in den Deckel der umgekehrt liegenden Schale und lüfte täglich einmal durch kurzes Abnehmen des Deckels. Man kann die Kulturen auch nach eintägigem Bebrüten oder von vornherein bei Zimmerwärme halten, muß aber dann einige Tage länger beobachten.

Photogramm 1 zeigt in doppelter Größe einen Teil einer Typhusaussaat auf Rhamnoseagar, die 4 Tage und 5 Stunden bei 36° gehalten wurde. In jeder genügend allein stehenden Kolonie haben sich etwa vom 3. Tage ab einige Pünktchen entwickelt, die, bald an Zahl und Umfang zunehmend, sich als knopfartige Gebilde, als Tochterkolonieen über die Mutterkolonie herauswölben. An der dicht besäten Stelle, wo die Kolonieen einen gleichmäßigen Rasen bilden, erheben sich diese Knöpfe, als wären es Einzelkolonieen einer anderen Bakterienart. Diese Knöpfe sind in der Durchsicht bräunlicher und nicht so klasklar wie die Mutterkolonie; daher ihre dunkle Farbe im Photogramm. In der Form, im Aussehen entsprechen diese Knopfkolonieen den Laktoseagarkolonieen der verschiedenen als Bact. coli mutabile beschriebenen Stäbchen. Ebenso wie bei diesen erhält man durch Abimpfen von diesen Knöpfen und Aussaat auf neuen Rhamnoseagar nunmehr Kolonieen, die keine solchen Knöpfe mehr bilden, die außerdem auch viel üppiger wachsen (Fig. 2). Neben diesen mutierten Kolonieen finden sich aber auch noch nicht mutierte in solcher Aussaat, weil die Tochterkolonieen im Innern und nicht auf der Oberfläche der Mutterkolonie entstehen, also ein Häutchen unmutierter Bakterien auch den sich vorwölbenden Knopf überzieht; so entnimmt die abimpfende Nadel beide Sorten, wenn auch die Tochterkolonie selbst, wie anzunehmen ist, nur aus mutierten Stäbchen besteht. Die Fig. 2 zeigt in 5-facher Größe 3 kleine Kolonieen, von den unmutierten Teilen der Mutterkolonie stammend, mit Knöpfen; die mittlere, die nur einen Knopf trägt, ist von der großen mutierten Kolonie allmählich umwachsen worden, als handle es sich um eine ganz andere Bakterienart. Fig. 3 zeigt in 5-facher Größe eine freistehende Typhuskolonie mit Tochterkolonieen. Daß es sich hierbei nicht um eine Verunreinigung der Typhuskultur mit anderen Bakterien handelt, wird, abgesehen von der Sorgsamkeit bei der Reinzüchtung der Kulturen, dadurch bewiesen, daß 1) jeder Typhusstamm so wächst, 2) die Bakterien der Tochterkolonieen sich nur gegen Rhamnose anders verhalten, als unmutierte Typhusbakterien; daß sie aber in allen anderen geprüften Eigenschaften, wie Form, Beweglichkeit, Agglutination, Zuckerzerlegung usw. sich nicht von anderen Typhusbakterien unterscheiden. Nur der Vollständigkeit halber habe ich diese Beweisgründe auch einmal durch Anwendung der Burrischen Ein-Zellkultur mit Tusche bestätigt. Eine Rückzüchtung der mutierten Form in die unmutierte ist mir nie gelungen.

Es besteht also morphologisch eine weitgehende Uebereinstimmung mit dem Bact. coli mutabile. Das biologische Ergebnis der Mutation aber scheint verschieden zu sein. Das Bact. coli mutabile zeigt nach der Mutation eine vorher nicht erkennbare Enzymproduktion, wodurch Milchzucker unter Gas- und Säurebildung zer-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

legt wird. Auf Endo-Agar zeigt sich diese neu erworbene Eigenschaft besonders schön. Bei meinen ersten Versuchen über die Rhamnosemutation der Typhusbakterien habe ich auch einen Endo-Agar benutzt, der statt der Laktose 1 Proz. Rhamnose enthielt. Die hier in den Kolonieen entstehenden Knöpfe zeigten meist eine Rosafärbung im Gegensatz zur blasseren Mutterkolonie. Anfangs dadurch irre geführt, erkannte ich bald, daß die mutierten Typhusbakterien die Rhamnose nicht unter Säurebildung oder Säure- und Gasbildung zerlegen. Jene Rosafarbe der Knöpfe auf Endo-Agar muß also andere Ursachen haben. 1909 schon hatte ich (5) Gelegenheit mitzuteilen, daß solche Knopfbildungen ohne Säureabspaltung vorkommen, auch bei anderen Bakterien. Damit ist natürlich nicht gesagt, daß die mutierten Typhusbakterien Rhamnose überhaupt nicht angreifen; sie könnten die Moleküle ja vielleicht ohne Säure- und Gasbildung assimilieren. Beweisen kann ich das allerdings bis jetzt nicht, und man kann sich die Mutation in diesem Falle auch anders erklären. Es fällt nämlich bei den Typhusaussaaten auf Rhamnoseagar auf, daß die Kolonieen recht klein und zart bleiben, also in ihrem Wachstum gehemmt werden. Daher läßt sich die Rhamnosemutation auch ohne Zwang als eine Anpassung an einem wachstumshemmenden Stoff erklären; nur geschieht die Anpassung nicht in langen Zeiträumen, sondern sozusagen ruckweise, wie beim Bact. coli mutabile; diese plötzliche Aenderung der Eigenschaften ist ja gerade das Typische der de Vriesschen Mutation gegenüber den älteren Entwickelungstheorien. Gerade deshalb möchte ich die Bezeichnung „Mutation“ vorläufig beibehalten, zumal da ein treffender Ersatz fehlt.

Wie aber kann diese harmlose Zuckerart eine Hemmung der Typhusbakterien bewirken? Sehr kleine Mengen von Rhamnose genügen, um die Mutation eintreten zu lassen. Massini hatte bei seinem Bakterium noch mit 0,1 Proz. Laktose die Bildung von Knopfkolonieen gesehen. Bei 0,025 Proz. Rhamnose im Agar zeigten Typhusbakterien noch deutlich Tochterkolonieen, nach 8 Tagen bei 36°; als ich dann Agar mit 0,01 Proz. Rhamnose noch weitere 6 Tage bei Zimmerwärme hielt, war deutliche Knopfbildung eingetreten; bei der Kontrolle ohne Rhamnose natürlich nicht. Also $^1/_{100}$ Proz. beeinflußt noch die Bakterien. Die hemmende Wirkung so geringer Mengen einer Zuckerart läßt sich meines Erachtens nicht gut in der Weise wie die Hemmung durch Desinfektionsmittel erklären. Denn erstens geht die Hemmung nicht parallel der Rhamnosekonzentration; bei 5 Proz. Rhamnose im Agar ist das Wachstum nicht wesentlich anders als bei 0,5 Proz. Zweitens werden andere Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe nicht gehemmt.

Ich glaube, die Seitenkettentheorie gibt uns die beste Handhabe zur Erklärung aller dieser Mutationen, bei denen es zur Bildung von „Knopfkolonieen“ kommt. Im vorliegenden Falle denke ich mir das so: Die Typhusbakterien besitzen in ihrer Leibessubstanz Rezeptoren, die die Rhamnose chemisch verankern, wenn diese mit ihnen zusammentrifft. Die Hemmung erklärt sich dann so, daß das Bakterium mit diesem fremden, an ihm verankerten Stoffe nichts anzufangen weiß, so daß ein Teil der Rezeptoren des Bakteriums, die sonst zur Aufnahme anderer Nährstoffmoleküle mit entsprechenden haptophoren Gruppen dienen, ausgeschaltet sind. Man kann das als „Rezeptoren-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verstopfung" bezeichnen. Die anderen Rezeptoren des Bakteriums bleiben, da sie keine Affinität zur Rhamnose haben, leistungsfähig; darum kommt es nie zu einer völligen Hemmung des Kolonieenwachtums. Könnte man eine solche völlige Hemmung erzielen, dann wäre eine Grundlage für eine Therapia magna sterilisans des Unterleibstyphus gegeben. — Die Mutation besteht nun darin, daß nach einer gewissen Inkubationszeit in der großen Zahl der Bakterien, deren Rhamnoserezeptoren besetzt, also „verstopft" sind, hier und dort ein Bakterium die Fähigkeit erlangt, diese durch Rezeptorenverstopfung bewirkte Hemmung zu überwinden. Diesen Anpassungsvorgang kann man sich in verschiedener Weise vorstellen: Die morphologische Analogie mit dem Bact. coli mutabile, bei dem übrigens die mutierten Kolonieen ebenfalls üppiger wachsen, legt die Vermutung nahe, daß die Rhamnose assimiliert, abgebaut würde. Säure- und Gasbildung sind für einen solchen Abbau wohl nicht notwendig; wissen wir doch z. B., daß Dextrose von Paratyphusbakterien unter Bildung von Gas und Säure, von Typhusbakterien unter Säurebildung ohne Gas, von Hefen unter Alkohol- und Gasbildung gespalten wird und ich fand, daß Hefekolonieen auf Lackmus-Maltoseagar keine Rötung machen. Diese Annahme, daß die mutierten Bakterien die Fähigkeit erworben haben, Rhamnose zu assimilieren, scheint mir durchaus statthaft, wenn auch der Nachweis von Abbauprodukten noch nicht gelungen ist. — Die Annahme, daß die Bakterien bei der Mutation die rhamnosebindenden Rezeptoren verlören, genügt allein nicht, da sie uns das üppigere Wachstum der mutierten Stäbchen nicht erklärt; denn ein Fehlen der Rezeptoren und eine Ausschaltung scheint mir ziemlich gleichwertig zu sein. — Eher annehmbar dagegen erscheint mir eine Ueberproduktion von rhamnosebindenden Rezeptoren; diese Rezeptoren könnten dann, ganz nach Ehrlichs Theorie der Antitoxinbildung durch Körperzellen bei der Toxinimmunität, von den Bakterien abgestoßen werden, und schon innerhalb des Nährbodens die Rhamnose binden, also gleichsam abfangen. Ich habe bei einem coliähnlichen Bakterium eine Beobachtung gemacht, die als Stütze dieser letzten Annahme dienen kann (aber nicht muß), daß nämlich eine Kolonie mutierter Bakterien die Knopfbildung in dicht daneben stehenden unmutierten Kolonieen verhinderte. — Die Seitenkettentheorie in dieser oder jener Anwendung scheint mir am besten die Entstehung „rhamnosefester" Typhusbakterien verständlich zu machen.

Aus den Photogrammen geht ja nun hervor, daß, ebenso wie beim Bact. coli mutabile, nicht alle Bakterien mutieren. In den in toto gehemmten Kolonieen, die wohl aus einigen Millionen Stäbchen bestehen, mutieren nur wenige Individuen, von denen dann jedes durch üppigere Vermehrung einen Knopf bildet. Damit taucht die Frage auf, warum gerade diese wenigen Stäbchen mutieren und die große Mehrzahl nicht, obwohl alle der Rhamnoseeinwirkung ausgesetzt sind. Auch hier läßt sich wohl vorläufig noch keine beweisende Lösung finden; ich vermute aber, daß Mangel an Nährstoffen oder Anhäufung von Stoffwechselprodukten eine Rolle spielen. Knöpfe entstehen mit Vorliebe im innersten Teile der Kolonieen. Ferner sah ich in einer Petri-Schale mit gleichmäßig dicht besätem Rhamnoseagar an der Stelle mehr Knöpfe gebildet, an der durch Wölbung des Glasbodens zufällig nur eine sehr dünne Nährboden-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schicht war. Auch vermute ich, daß die entstandene Tochterkolonie das Eintreten weiterer Mutationen in ihrer nächsten Umgebung hemmt; trotzdem können 2 Knöpfe dicht zusammenstehen, sie sind dann eben gleichzeitig entstanden.

Die Bedeutung der geschilderten Vorgänge liegt besonders darin, daß damit zum ersten Male bei einer ganzen Bakterienart, dazu einer menschenpathogenen, derartige mutationsartige Kulturformen bekannt werden. Was als „Bact. coli mutabile" beschrieben worden ist, sind Stämme, die untereinander nicht übereinstimmen! Weiter ist neu, daß diese morphologisch ganz mit dem Wachstum des Bact. coli mutabile übereinstimmenden Vorgänge ohne erkennbare Veränderung des Vergärungsvermögens eintreten. Endlich scheint mir, daß die Sache auch praktisch von Bedeutung ist. Ich möchte **die Rhamnosemutation das sicherste Kulturmerkmal der Typhusbakterien** nennen, das wir kennen. Zwei Forderungen machen das Spezifische eines Merkmals aus: es muß bei allen Stämmen der gleichen Art und nur bei diesen vorkommen. Alle Typhusstämme wachsen unter Bildung von Tochterkolonieen auf Rhamnoseagar. Ich habe bis jetzt mehr als 120 Typhusstämme verschiedener Herkunft, ganz frische und jahrelang fortgezüchtete, geprüft und nie gefunden, daß einem sicheren, unmutierten Typhusstamm diese Eigenschaft gefehlt habe. Auch die als „Metatyphus" bezeichnete Varietät, die ich übrigens selbst für eine Mutationsform ansprechen möchte, besitzt sie. — Die andere Forderung, daß sie nur bei Typhusbakterien vorkäme, ist nicht streng erfüllt, aber doch so weit, daß der Ausdruck „spezifisch" eine gewisse Berechtigung hat. Die heutige Kulturdiagnose des Typhus beginnt ja im allgemeinen damit, Bakterien zu suchen, die auf Lackmus-Laktoseagar als blaue oder auf Endo-Agar als farblose Kolonieen wachsen; diese prüft man dann erst genauer, besonders mit agglutinierendem Serum. Bisweilen ist aber auch die Agglutination nicht entscheidend, also praktisch auch nicht ohne jede Einschränkung „spezifisch". Das Vorkommen schwer agglutinierbarer frischer Typhusstämme ist ja bekannt; ich selbst habe einige gefunden, aber noch öfter waren solche unvollkommen agglutinierten Kulturen keine Typhusbakterien. Auch sei auf das am Schlusse dieser Arbeit erwähnte „Bact. typhi mutabile" verwiesen; auch dieses wurde unvollkommen agglutiniert. In solchen zweifelhaften Fällen hat bis jetzt stets die Kultur auf Rhamnoseagar richtig entschieden. Die Fig. 4 (natürliche Größe) zeigt, wie man zweckmäßig bei dieser Prüfung vorgehen kann. Von einer Reinkultur, am besten Einzelkolonie, der zu prüfenden Bakterien bestreiche ich dünn mit der Nadel 1—2 cm² der Rhamnoseagaroberfläche; auf derselben Platte ebenso einige Typhuskulturen zum Vergleich. Die Figur zeigt, wie nach 4—5 Tagen bei 36° die 3 Typhusaussaaten Tochterkolonieen gebildet haben; die 4. zu prüfende aber nicht, die außerdem üppiger, weniger durchsichtig ist. Die Bakterien waren auf Lackmus-Laktoseagar blau gewachsen, und wurden durch Typhusserum vom Titer 1:2000 bis zur Verdünnung von 1:500 agglutiniert. Meist unterscheiden sich solche typhusähnliche Bakterien schon nach 24 Stunden durch üppigeres, opakeres Wachstum von dem zarten, glasklaren Typhusrasen, so daß man die Knopfbildung nicht abzuwarten braucht.

Derartige „typhusähnliche" Bakterien, die auf Lackmus-Laktoseagar blau wachsen, findet man ja recht oft in dem Kote kranker und gesunder Menschen. H. Gräf (8) hat, soviel ich weiß, als erster,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

derartige Bakterien systematisch genau untersucht; 120 solcher Stämme hat er in etwa 12 auch serologisch gut umschriebene Arten trennen können. Es ist also nicht angängig, wie es anscheinend öfters geschieht, derartige Bakterien ohne genauere Prüfung als „Bact. faecalis alcaligenes“ zu bezeichnen. Es war mir 1908 möglich, von den meisten Gräfschen typhusähnlichen Arten einen oder mehr Stämme mit Rhamnose zu prüfen; keiner bildete Tochterkolonieen. Ebensowenig taten es die verschiedenen Stämme der Paratyphusgruppe und der Gärtner-Gruppe. Ich prüfte über 100 Stämme.

Von allen untersuchten „typhusähnlichen“ Bakterien fand ich solche Rhamnose-Tochterkolonieen nur bei Angehörigen der **Ruhrgruppe.** Die Stämme, die vor 3 Jahren unserem Institut von Herrn Prof. Kruse mit der Bezeichnung Pseudodysenterie A, B und D gütigst überlassen wurden, verhielten sich fast ganz wie Typhus; ebenso unser Sammlungsstamm „Flexner“, sowie die Pseudodystenteriestämme „Schumacher“, „Breidenbach“ und „Flexner“, die Herr Prof. Reichenbach uns vor kurzem freundlichst zukommen ließ; Stamm Schumacher zeigte die Reaktion allerdings auffallend schwach. Ich glaube, daß meine Rhamnosereaktion eine besonders nahe Verwandtschaft dieser sogenannten Pseudodysenteriebakterien mit den Typhusbakterien dartut. Der Pseudodysenteriestamm „Strong“ (von Herrn Prof. Reichenbach) wuchs dagegen üppig und ohne Knöpfe, so daß ein deutlicher Unterschied bestand. Dieser Stamm spaltet die Rhamnose unter Säurebildung, und er ließ sich bei meinen Versuchen hierdurch sowie durch die Säurebildung aus Saccharose und Raffinose leicht von den vorher genannten Stämmen unterscheiden. Auch der Pseudodysenteriestamm „Braun“ zeigte keine Rhamnosemutation; auch er unterschied sich durch die Zuckervergärung von den 3 ersten Stämmen, indem er, ebenso wie die echten Ruhrstämme, aus Arabinose, Mannit und Maltose keine Säure abspaltete.

Von „echter Ruhr“ hatte ich 5 Stämme zur Verfügung, aber leider konnte ich noch keine ganz frisch isolierten untersuchen. Zunächst fand ich, daß die Ruhrstämme auf Rhamnoseagar keine Knopfkolonieen bildeten. Doch sah ich neuerdings, daß bei einigen, vielleicht sogar bei allen Stämmen aus den älteren Kulturen zwei etwas verschiedene Kolonieensorten sich züchten ließen, von denen die eine auf Rhamnoseagar keine Knöpfe bildete, die andere aber auffallend stark gehemmt wurde und dann üppig wachsende Tochterkolonieen bildete. Da die Beobachtungen erst vor kurzem gemacht wurden und noch nicht oft genug wiederholt worden sind, möge dieser kurze Hinweis genügen. Das scheint mir aber jetzt schon sicher zu sein, daß bei Studien über Ruhrbakterien der Rhamnosenährboden berücksichtigt zu werden verdient.

Unter den Coli-Bakterien fand ich bei der Prüfung von nahezu 200 Stämmen nur 3—4, die bei längerem Wachstum auf Rhamnoseagar, knopfartige Gebilde hatten; ich habe sie jedoch nicht genauer untersucht. Ferner sah ich etwas derartiges bei einem Luftkeim, der wahrscheinlich zur Diphtheriegruppe zu rechnen ist. Keine der anderen geprüften Mikroorganismen, Bakterien, sporenbildende Bacillen, Kokken, Vibrionen, Sproßpilze, zeigten Knopfbildung auf Rhamnosenährböden.

Kommt also die Bildung von Knopfkolonieen nicht ausschließlich bei Typhusbakterien, sondern auch bei einigen wenigen anderen Bakterien vor, so muß doch hervorgehoben werden, daß auch die Agglutination in dieser Richtung nicht ganz uneingeschränkt als spezifisch gelten kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gräf (8) fand 4 Bakterienarten, die hoch von Typhusziegenserum beeinflußt wurden, ein fluoreszierender sogar bis zum Endtiter, und ein Bacillus mit Köpfchensporen wurde dauernd bis 1:1000 von einem Serum mit dem Titer 2000 agglutiniert. Immerhin vermögen im vorliegenden Falle die Agglutinine mehr als die Rhamnose, da sie Typhusbakterien von den auf Rhamnose gleichwachsenden Pseudodysenteriebakterien trennen.

Ein völliges Analogon zu der Rhamnosemutation der Typhusbakterien ist die gleichzeitig von mir gefundene Raffinosemutation der Paratyphusbakterien vom Typus B. Vor kurzem habe ich (7) darauf hingewiesen, daß sie ein Merkmal dieser Paratyphusbakterien ist, welches sogar der Agglutination überlegen ist, da sich die echten Paratyphusbakterien von den ungefähr gleich agglutinierenden Fleischvergiftern der Paratyphusgruppe dadurch unterscheiden lassen. Die Mutation kann also als neues und gutes Mittel zur Unterscheidung von Bakterienarten dienen!

Die Rhamnose ist also gleichsam ein Reagens auf Typhus- und gewisse Pseudodysenteriebakterien. Umgekehrt können diese Bakterien als Reagens für diese Zuckerart dienen, da ich bei den anderen von mir geprüften Stoffen der Kohlenhydratreihe keine Knöpfe in Typhuskolonieen fand. Ich benutzte die Rhamnose der Firmen Merck und Kahlbaum, ohne einen Unterschied zu finden. Die Rhamnose (Isodulzit) ist eine Methylpentose von der Formel

$$CH_3—CH(OH)—CH(OH)—CH(OH)—CH(OH)—CHO + H_2O.$$

Es sind farblose, in Wasser und Alkohol lösliche Kristalle, mit dem Schmelzpunkt 93°. Leider konnte ich die anderen Methylpentosen, Fukose und Rhodeose, bis jetzt nicht prüfen; möglicherweise ist gerade die Methylgruppe hier ausschlaggebend. Die Arabinose, eine Pentose ohne Methylgruppe, rief keine Knopfkolonieen bei Typhusbakterien hervor (wohl aber bei einigen typhusähnlichen Bakterien). Das Zustandekommen solcher Mutationen ist nach der besprochenen Annahme nur abhängig von der chemischen Konstitution des Bakteriums (Rezeptoren) und des reagierenden Stoffes (haptophore Gruppe).

Setzt man einem Lackmusagar 1 Proz. Glyzerin, Mannit, Mannose, Dextrose, Galaktose, Lävulose oder Maltose zu, so zerlegen Typhusbakterien diese Stoffe unter deutlicher Säurebildung ohne Gasbildung; dagegen sieht man bei Lackmusagar mit Erythrit, Arabinose, Rhamnose, Adonit, Dulzit, Laktose, Saccharose, Raffinose, Inulin oder Amylum solubile keine Veränderung des Nährbodens. Ich prüfte rund 110 Typhusstämme auf allen diesen Nährböden; alle verhielten sich gleich, nur der sogenannte Metatyphus bildete aus Glyzerin keine Säure, was alle anderen Stämme in 48 Stunden sehr ausgesprochen taten. Auch Typhusstämme, die die Rhamnosemutation bereits durchgemacht hatten, verhielten sich auf allen diesen Nährböden wie zuvor; ebenso die mutierte Form des „Bact. typhi mutabile". Die 4 oben genannten Stämme „echter Ruhr" unterschieden sich von Typhus durch das Fehlen der Säurebildung aus Mannit und Maltose.

In manchen Lehrbüchern der Chemie findet man einige der genannten Kohlenhydrate und mehrwertigen Alkohole als „nicht gärungsfähig" bezeichnet, was aber wohl nur auf Hefegärung bezogen werden darf; auch die Pentosen, also auch die Rhamnose, gehören dazu. Ich aber habe bei meinen Versuchen für jeden der 18 Stoffe, mit Ausnahme des Inulins, Bakterien gefunden, die den betreffenden Stoff unter Säure-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bildung, oft auch Gasbildung zerlegen; Erythrit und Adonit wurden allerdings sehr selten angegriffen. Insbesondere die Rhamnose wird unter Gas- und Säurebildung gespalten von den Paratyphus- und Fleischvergiftungsbakterien und von den meisten Coli-Stämmen; während Staphylokokken, Diphtherie-, Hühnercholera- und Prodigiosus-Bakterien u. a. das nicht tun. Daß die mutierten Typhusbakterien aus Rhamnose keine Säure bilden, liegt also nicht an fehlender Spaltbarkeit des Rhamnosemoleküls, sondern am Mangel geeigneten Enzyms bei den Bakterien. Hervorgehoben sei aber noch, daß Typhusbakterien, wie gesagt, keine Zuckerart unter Gasbildung zerlegten; daß aber alle Bakterien, die die Rhamnose überhaupt sichtbar zerlegten, dies unter Gasbildung taten.

II. Andere Mutationen der Typhusbakterien.

Auf Gelatine.

Seit mehreren Jahren züchte ich meine Reinkulturen, darunter viele Typhusstämme, auf schräg erstarrter Nährgelatine so fort, daß dabei die Röhrchen in der von mir angegebenen Weise (5) luftdicht verschlossen sind. Hierzu verschließe ich die unbeimpften Nährbodenröhrchen gleich nach der Herstellung, indem ich das untere Ende des Wattepfropfens in geschmolzenes Paraffin tauche; zum Beimpfen löse ich den Pfropfen durch kurzes Erwärmen in der Flamme und tauche ihn nachher vor dem Aufsetzen wieder in Paraffin. Dieser zweimal paraffinierte Wattepfropfen leistet das gleiche wie das unbequeme und nicht oft wiederholbare Zuschmelzen des Glasrohres. Die meisten Typhus-, Paratyphus- und Fleischvergiftungskulturen blieben bis jetzt schon mehr als 2 Jahre ohne Uebertragung am Leben.

Auf derartigen, vor Austrocknung geschützten Gelatinestrichkulturen, beobachtete ich nun recht häufig nach einigen Monaten knopfartige Gebilde; die Bakterien waren also an diesen Stellen nachträglich stärker gewuchert als die anderen in der Umgebung, hatten also neue Wachstumsenergie erworben. Aehnliches sah ich bei mehreren anderen Bakterien, z. B. bei Fleischvergiftungsstämmen der Paratyphusgruppe. Die stärker gewucherten und deshalb sich knopfartig vorwölbenden Bakterien vermögen wohl den schon erschöpften Nährboden etwas besser auszunützen. Einmal fand ich, daß in einer alten Kultur nur noch diese Knöpfe lebende Bakterien enthielten. Da nun auch bei diesen Vorgängen anscheinend nur einzelne Individuen in der unzählbaren Bakterienmenge solche vermehrte Wachstumsenergie erhalten, darf man wohl auch hier an Mutation denken. Da die Knöpfe auch hier nicht alle gleichzeitig entstehen, wechselt die Größe; sie erreichen ungefähr 2 mm Durchmesser, viele stehen an der Grenze der Sichtbarkeit, es wird also auch wohl noch nicht erkennbare derartige Mutationsherde geben.

Inwieweit diese Knopfbildungen mit den folgenden Beobachtungen zusammenhängen, darüber kann ich noch kein endgültiges Urteil abgeben, weil ich das nur nach mehrjährigen Versuchsreihen für tunlich halte. Von 40 Typhusstrichkulturen, die $^1/_2$—1 Jahr alt waren, impfte ich auf die Oberfläche großer Gelatineplatten so ab, daß viele gut getrennte Einzelkolonieen wuchsen. Bei fast allen Aussaaten fanden sich zwei gut unterscheidbare Kolonieensorten: auffallend klein bleibende, die wenig mehr als 1 mm breit wurden; daneben ohne Uebergangsformen viel größere, mehr als 1 cm breit werdend. Im September 1908 legte ich mir von beiden Formen des gleichen Stammes Reinkulturen auf schräg erstarrter Gelatine an. Im November 1910

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

säte ich von beiden Originalröhrchen auf je eine Hälfte einer großen Gelatineoberfläche aus. Von beiden wuchsen trotz des Alters viele Kolonieen: Von der klein bleibenden Sorte nur kleine Kolonieen, von der großen Sorte aber nicht nur große, sondern daneben wieder die sehr kleinen Kolonieen. Ich nehme an, daß die größere Sorte die ursprüngliche Form darstellt, die kleinere Sorte aber die mutierte ist. In den anderen Eigenschaften stimmen beide Sorten überein, wie es ja bei den meisten Bakterienmutationen der Fall ist. Bemerkenswert ist, daß beide Sorten bei 36° auf Agar gleich gut wuchsen. In Klatschpräparaten von 18-stündigen Gelatinekulturen konnte ich keinen Formunterschied der Stäbchen erkennen: als ich aber beide Sorten auf je einer Hälfte einer Drigalski-Conradischen Lackmus-Laktoseagarplatte 18 Stunden bei 36° hielt, war zwar, wie gesagt, kein Kolonieenunterschied zu sehen, wohl aber waren die Stäbchen der großgewachsenen Sorte kürzer, mit anderen Worten, die Schnelligkeit der Teilung war erhöht.

Bacterium typhi mutabile.

Im November 1910 hat K. A. Jakobsen (9) vom Kopenhagener Statens Seruminstitut eine auch praktisch wichtige Mitteilung über ein „Bacterium typhi mutabile“ gemacht. — Die von ihm beschriebene Varietät oder Mutante des Typhusbakteriums wurde im Wachstum sehr gehemmt durch Stoffe, die durch wiederholte Autoklavisierung des Nähragars sich gebildet hatten. Wichtig ist die gleichzeitige Aenderung der Agglutininbindung, also eine besonders starke Aenderung im Rezeptorenapparat; wichtig weiterhin die Erschwerung der bakteriologischen Diagnose bei der ganzen Epidemie, welche durch diese Typhusvarietät erzeugt wurde. Vielleicht haben ähnliche Vorgänge eine Rolle gespielt bei einer bakteriologisch unaufgeklärten aber klinisch einwandfreien Typhusepidemie, über die B. Fischer (10) 1905 eingehend berichtet hat.

Herr Dr. Th. Madsen war so freundlich, mir vor kurzem diesen abnormen Stamm zu überlassen. Ich kann die Beobachtungen von Jakobsen schon jetzt zum größten Teil bestätigen. Die Kolonieen sind anfangs sehr klein; sie erinnern an Streptokokkenkolonieen. In den folgenden Tagen wachsen dann typhusartige Kolonieen daraus hervor, die vom Typhusserum bis zum Endtiter agglutiniert werden. Diese Mutation entspricht in ihrem Wesen ganz der Bildung von Knopfkolonieen; nur wird hier schon die einzelne Tochterkolonie so groß, daß die winzige Mutterkolonie völlig überwuchert wird. Bei meinen Nachprüfungen trat die Hemmung mit nachfolgender Mutation nicht nur auf Autoklavenagar auf, sondern auch auf Agarnährböden, die nicht im Autoklaven waren. Ich denke aber, daß dies kein wesentlicher Unterschied ist, da z. B. unser Lackmus-Laktoseagar 3 Stunden lang bei 100° im Dampftopf gehalten wird. Die Kolonieen der mutierten Form bilden auf Rhamnoseagar Knöpfe, allerdings spät und spärlich.

Zusammenfassung.

Typhus- und gewisse Pseudodysenteriebakterien wachsen auf Rhamnoseagar unter Bildung von Tochterkolonieen. Diese Knopfkolonieen sind ein neuartiges und zwar das typischste Kulturmerkmal dieser Bakterien. Der Vorgang entspricht morphologisch ganz dem Wachstum des „Bact. coli mutabile“ auf Laktoseagar. Es läßt sich biologisch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

als eine „Rezeptorenverstopfung" der Bakterien deuten, die dann mutationsartig überwunden wird, sei es durch Abbau der Rhamnose, sei es durch antitoxinähnliche Ueberproduktion von Rhamnoserezeptoren. — In älteren Gelatinekulturen der Typhusbakterien kommt es anscheinend auch zu mutationsartigen Bildungen. Die Befunde Jakobsens bei dem sogenannten Bact. typhi mutabile wurden, soweit geprüft, bestätigt.

Literatur.

1) Neisser, M., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906. Beiheft. p. 98.
2) Massini, R., Arch. f. Hygiene. Bd. 61. 1907. p. 250.
3) Burri, R., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. 1910. p. 321.
4) Müller, Reiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1908. Beiheft. p. 57.
5) — Münchener med. Wochenschr. 1909. p. 885.
6) — Umschau. 1909. p. 400 (3 Photogramme).
7) — Deutsche med. Wochenschr. 1910. p 2388.
8) Gräf, Heinr., Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 54. 1906. p. 201.
9) Jakobsen, K. A., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. p. 208.
10) Fischer, Bernh., Klin. Jahrbuch. Bd. 15. 1905. p. 132—146.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über den Flecktyphuserreger.

Von Privatdozent **W. Predtjetschensky,**
Vorstand der propädeutischen Klinik der Medizinischen Frauenhochschule zu Moskau.

Der weitere Verlauf meiner Untersuchungen über den Flecktyphuserreger erwies vor allem die Bestätigung dessen, was ich bereits in Bd. 55. Heft 3 der vorliegenden Zeitschrift geäußert hatte, nämlich: Im Blute eines jeden Flecktyphuskranken fand ich während der Periode des höchsten Fiebers, wenn ich Ausstrichpräparate unter Anwendung meiner Methode, nach zweimaligem Zentrifugieren, bereitete, immer ein und dasselbe eigenartige, kurze Stäbchen.

Auffallend war dabei der Zusammenhang zwischen der Anzahl der im Ausstriche sich befindenden Stäbchen und der Schwere des Falles. So fanden sich in besonders schweren, letalen Fällen des Flecktyphus die Stäbchen massenweise in jedem Felde des Mikroskops.

Was die Aussaatproben des Blutes der Flecktyphuskranken betrifft, so hängt deren Erfolg nicht nur von der strengen Beachtung aller im ersten Aufsatze beschriebenen Bedingungen und Maßregeln ab, sondern offenbar auch von dem Charakter der Epidemie. Meine ersten Untersuchungen beziehen sich auf eine Zeit, wo die Epidemie am ärgsten wütete, wo die Zahl der schweren Fälle mit deutlich ausgesprochenem Hautausschlag sehr hoch war. Damals ergab die Mehrzahl der Aussaatproben auf Bouillon positive Resultate. Als aber später leichte und sogar abortive Flecktyphusformen zu erscheinen anfingen, begann auch das Resultat der Aussaatproben des Blutes öfters negativ auszufallen. Besonders oft war dieses bei Frauen und bei jüngeren Personen, die das 15. Lebensjahr noch nicht überschritten hatten, der Fall, ein Umstand, der wohl dem leichteren und schnelleren Verlaufe zuzuschreiben ist, den gewöhnlich der Flecktyphus bei solchen Personen nimmt. Nach

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Beobachtungen des 2. Städtischen Krankenhauses zu Moskau fiel die Temperatur bei Frauen bereits am 9.—11. Tage der Krankheit, falls letztere nicht durch Komplikationen erschwert wurde, bei Männern dagegen erst am 13.—16. Tage. Nehmen wir also das Blut einer flecktyphuskranken Frau am 8.—9. Tage der Krankheit, wo vielleicht am nächsten Tage schon die Krisis eintritt, so fällt das Resultat der Aussaatprobe höchstwahrscheinlich negativ aus. Ueberhaupt muß man, um die erhaltenen Resultate der Aussaatproben auf Bouillon richtig beurteilen zu können, den Patienten während der ganzen Krankheit beobachten.

Bei meinen Untersuchungen des Blutes der Flecktyphuskranken gewinne ich immer mehr die Ueberzeugung, daß in der Flecktyphusbaracke manchmal Patienten mit ganz anderen Erkrankungen untergebracht werden. Schon in dem ersten Aufsatze erwähnte ich ein derartiges Beispiel, wo ein Fall von Typhus abdominalis mit ausgesprochen deutlichem Ausschlag in der Flecktyphusbaracke untergebracht worden war. Vor etwa 4 Wochen hatte ich Gelegenheit, folgenden Fall zu beobachten: In der Flecktyphusbaracke wurde am 6. Tage nach der Erkrankung ein 15-jähriger Knabe untergebracht, der einen ausgesprochen deutlichen Ausschlag aufwies. Die Aussaatprobe seines an demselben Tage entnommenen Blutes auf Bouillon ergab ein negatives Resultat. Am 7. Tage wurde aber der Ausschlag bedeutend bleicher, die Temperatur fiel, und am 8. Tage war die Temperatur bereits normal. Ob das nun ein sehr leichter Flecktyphus oder eine andere Infektionskrankheit gewesen, blieb unentschieden.

Bemerkenswert ist ferner der Umstand, daß in mehreren sehr schweren Flecktyphusfällen, wo die Ausstrichpräparate das Stäbchen massenhaft aufweisen, die Aussaatproben desselben Blutes auf Bouillon doch steril bleiben. Offenbar erleiden die im Blute kreisenden Stäbchen in solchen Fällen derartige Veränderungen, daß sie ihre Fähigkeit, sich auf den üblichen Nährböden fortzupflanzen, einbüßen. Oder aber es übt das Blut der Kranken, trotz der Verdünnung durch eine reichliche Menge Bouillon, auf das Wachstum des Stäbchens einen hindernden, ja sogar vernichtenden Einfluß aus. Im Laufe der Zeit werden wir daher genötigt sein, entweder einen anderen Nährboden zu suchen oder eine neue Methodik der Reinkulturzüchtung des Stäbchens aus dem Blute der Flecktyphuskranken zu entwerfen.

Ferner bestrebte ich mich, die Einzelheiten der Agglutinationsfähigkeit näher kennen zu lernen, die das aus dem Blute der Flecktyphuskranken gewonnene Serum bietet. Dabei bediente ich mich außer den in der Bakteriologie allgemein üblichen Methoden einer besonderen Modifikation, die zum ersten Male von Bezançon und Griffon[1]) für Pneumococcus-Kulturen vorgeschlagen wurde, und erhielt folgende lehrreiche Ergebnisse: Ich nahm das Blutserum von Flecktyphuskranken und Genesenden, säte darauf ein geringes Quantum der Reinkultur meines Stäbchens und brachte das Glas in einen Thermostaten bei 37° C. Am nächsten Tage bereitete ich aus diesem Serum Ausstrichpräparate, die mit verdünntem Karbolfuchsin gefärbt wurden. An solchen Präparaten erschienen die Stäbchen ausschließlich haufenweise, einzelne Stäbchenexemplare waren hier überhaupt nicht zu finden. Ein ganz

1) Pouvoir agglutinant du sérum dans les infections expérimentales et humaines à Pneumococcus. (La Presse méd. 17 juillet 1897.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

anderes Bild boten dagegen solche Präparate, wenn ich, unter Anwendung derselben Methodik, dieselbe Reinkultur meines Stäbchens auf ein Serum säte, das aus dem Blute einer gesunden Person stammte oder aus dem Blute einer Person, die nicht am Flecktyphus, sondern an irgendeiner anderen Infektionskrankheit litt. Ich nahm z. B. das Blutserum von Personen, die an Pneumonia crouposa, Pneumonia chron., Typhus abdominalis litten, und sah am nächsten Tage in den Ausstrichpräparaten eine Masse vollkommen einzeln daliegender Stäbchen über das ganze Feld zerstreut. Hier und da sah ich freilich auch wohl einen Haufen Stäbchen, doch lag ein solcher stets zwischen einer Menge einzelner, zerstreut daliegender Stäbchenexemplare.

Der Unterschied zwischen den beiden mikroskopischen Bildern ist dermaßen deutlich und beständig, daß dieses Verfahren, meiner Ansicht nach, zum Zwecke der Differentialdiagnostik zwischen dem Flecktyphus und anderen ähnlichen Krankheiten wohl zu verwerten ist.

Hier möchte ich noch einige Besonderheiten meines Stäbchens erwähnen: Wird die Kultur vielmals auf Bouillon umgesät, so bildet mein Stäbchen mit der Zeit immer weniger eine lockere, sich leicht beim Schütteln niedersetzende Schicht; die Schicht wird vielmehr allmählich sehr klebrig, dehnbar und läßt sich gar nicht mehr umschütteln, wobei auch die Bouillon sich 24 Stunden nach der Aussaat in eine dickflüssige, zähe, geleeähnliche Masse verwandelt. Auch fängt unter diesen Umständen das Stäbchen sich nach Gram zu färben an, und zwar entweder so, daß sich einzelne Individuen der Reinkultur färben, die anderen aber nicht; oder aber es färben sich alle auf einem Nährboden gezüchteten Stäbchen nach Gram, wogegen sich alle auf einem anderen Nährboden gezüchteten bei demselben Verfahren entfärben.

Weitere Untersuchungen des Sputums der Flecktyphuskranken ergaben im allgemeinen dieselben Resultate, die bereits in meinem ersten Aufsatze beschrieben worden sind: In dem Sputum beinahe jedes Flecktyphuskranken, der das Sputum ausscheidet, findet sich mein Stäbchen, öfters mit anderen Mikroorganismen — Stäbchen und Kokken — untermischt, manchmal aber beinahe in Reinkultur und in überaus großer Anzahl.

Dasselbe Stäbchen ist auch im Urinniederschlage der Flecktyphuskranken enthalten; auch ist es nicht schwer, das Stäbchen in Reinkultur aus dem Urinniederschlage dieser Kranken zu erhalten, wenn man nur zuvor die betreffenden äußeren Organe sorgfältig wäscht, den Urin mittels eines sterilen Katheters gewinnt und sofort auf Bouillon aussät. Bemerkenswert ist dabei der Umstand, daß trotz der zahlreichen, von mir unternommenen Untersuchungen und Aussaatproben des Urins anderer Kranken (Typh. abd., Pneum. croup., Pneum. chron. tbc.) es mir niemals unter Anwendung derselben Methodik gelungen ist, dasselbe Stäbchen zu erhalten. Gewöhnlich war entweder der Urin steril oder aber es wuchsen Kokken und Stäbchen, die keinerlei Aehnlichkeit mit meinem Stäbchen aufwiesen.

Dieses eigenartige Stäbchen, welches ich zuerst aus dem Blute der Flecktyphuskranken in Reinkultur gewonnen habe, befindet sich also sehr oft und in großer Anzahl auch im Sputum und im Urin derselben Kranken. Man muß daher annehmen, daß es zum Flecktyphus in engster Beziehung steht, daß es der Erreger der Krankheit ist.

Die einzige Annahme, die man außer der eben erwähnten betreffs dieses Stäbchens hätte zulassen können, wäre, daß es ein einfacher

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Saprophyt ist, der sich nur sehr oft bei Flecktyphuskranken findet. Doch blieben bei dieser Annahme folgende Fragen offen:

1) Warum findet sich dieser vermeintliche Saprophyt sowohl im Blute, als auch im Urin und im Sputum der Flecktyphuskranken?
2) Warum findet er sich beim Flecktyphus so beständig und sehr oft ohne jeden anderen Mikroorganismus? und
3) warum findet sich dieser Saprophyt nicht auch bei anderen Infektionskrankheiten?

Es fehlt nur noch ein Glied in der Kette, um meinem Stäbchen die Rolle des Flecktyphuserregers zuzusprechen, der experimentelle Flecktyphus bei Tieren. Leider gestatten es mir die klimatischen Verhältnisse in Moskau nicht, in genügender Anzahl gesunde Affen zu halten, bei denen, nach den Versuchen von Charles Nicolle[1]), man den wirklichen Flecktyphus beobachten kann. Doch zweifle ich nicht daran, daß auch dieses letzte Glied bald durch die Arbeiten derjenigen Forscher ergänzt sein wird, die die volle Möglichkeit besitzen, an Affen zu experimentieren.

Gibt man nun zu, daß der Erreger der Krankheit im Sputum und im Urin der Flecktyphuskranken in großer Menge enthalten ist, so wird uns vollkommen klar, wie sich der Flecktyphus verbreitet. Wie bekannt, befinden sich die Flecktyphuskranken manchmal längere Zeit ohne Bewußtsein, urinieren ins Bett, verunreinigen Hände, Wäsche, Bett, Boden und Wände der Baracke mit ihrem schleimig-eiterigen Sputum, welches sie nicht imstande sind, in ein eigens dazu bestimmtes Becken vorsichtig auszuspeien. Unter diesen Verhältnissen können die Kranken selbstverständlich äußerst leicht die Umgebenden anstecken, vor allem natürlich diejenigen, die sie pflegen, die Wärterinnen, barmherzigen Schwestern, ärztlichen Gehilfen und Aerzte. Bei dieser Annahme erklärt sich also leicht die große Verbreitungsfähigkeit des Flecktyphus, die Schwierigkeit, sich vor demselben zu schützen, besonders wenn man, wie es leider bis heute noch oft der Fall ist, Sputum und Urin vollkommen unbeachtet läßt.

Beim sorglosen Außerachtlassen des Urins und des Sputums der Flecktyphuskranken ist es wohl möglich, daß die Seuche nicht nur durch Kranke, sondern auch durch Genesende verbreitet wird. Der Urin der Flecktyphuskranken enthält das beschriebene Stäbchen nicht nur während der Periode der hohen Temperatur, sondern auch noch einige Tage, nachdem die Temperatur bis zur Norm gesunken ist. Noch länger findet sich offenbar das Stäbchen im Sputum der Kranken vor. In dieser Beziehung sind besonders 2 Fälle lehrreich, die ich im 2. Städtischen Krankenhause zu beobachten Gelegenheit hatte: Bei diesen beiden Kranken war aus dem Blute das Stäbchen in Reinkultur gewonnen worden. Auch im Sputum fand sich dasselbe Stäbchen in sehr großer Anzahl und beinahe in Reinkultur. Dann begann ich, systematisch alle 3—4 Tage ihr Sputum zu untersuchen. Dasselbe enthielt eine Menge der Stäbchen während der ganzen Zeit, welche die beiden Kranken in der Baracke verweilten. Am Tage vor ihrer Entlassung, wo sie, außer einer unbedeutenden Bronchitis, keinerlei krankhafte Erscheinungen mehr aufwiesen, enthielt ihr Sputum noch das Stäbchen in sehr großer Anzahl.

Solche Personen können, meiner Ueberzeugung nach, ebensolche

1) Recherches expérimentales sur le typhus exanthématique, entreprises à l'institut Pasteur de Tunis pendant l'année 1909. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1910. No. 4.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

„Träger“ von Flecktyphus werden, wie es bekanntlich Unterleibstyphusträger gibt.

Selbstredend schließen diese Verbreitungswege des Flecktyphus die Möglichkeit nicht aus, daß die Seuche auch durch Insekten, durch Ektoparasiten, ihren Weg nimmt, namentlich durch Kleiderläuse, welche, nach den bisherigen Versuchen des oben bereits erwähnten Charles Nicolle, für die Frage über die Verbreitungswege des Flecktyphus von gewisser Bedeutung sind. Doch scheint es mir, daß die Verbreitung durch Sputum und Urin weit besser die Mannigfaltigkeit der Tatsachen erklärt, die uns die Epidemiologie des Flecktyphus erschließt. Daraus läßt sich vielleicht auch der scharfe Unterschied zwischen der Verbreitungsfähigkeit des Flecktyphus und z. B. der des Recurrens erklären, da bei dem letzteren die unumgängliche Teilnahme der Ektoparasiten ohne jeden Zweifel ist.

Ich hoffe, daß die mitgeteilten Tatsachen schon jetzt dem Selbstschutze der Herren Kollegen dienen können, die unter Flecktyphuskranken die Pflicht ihrer Arbeit verrichten.

Nachdruck verboten.

Diphtherietoxin und Lipolyse durch Organe[1]).

[Aus der Medizinischen Klinik der Königl. Universität Genua (Vorstand: Prof. E. Maragliano).]

Von **Amerigo Barlocco,** Dozent.

Auf meine früheren Arbeiten über den Einfluß des Diphtherietoxins auf den autolytischen[2]) Prozeß, in welchen ich besonders die durch das Toxin bewirkten Aenderungen der Autolyse der Eiweißkörper untersuchte, lasse ich heute einen Bericht über eine erste Reihe von Untersuchungen über den Einfluß folgen, den das Diphtherietoxin auf die durch die Organlipase bewirkte Lipolyse ausübt.

Ich will diesbezüglich die Arbeiten von Neuberg[3]), von Neuberg und Rosenberg[4]) und von Neuberg und Reicher[5]) über die Lipolyse, welche durch das Tetanus-, das Cholera- und das Staphylokokkentoxin bei anfangs sauren Oelen und bei Lecithinaufschwemmungen bewirkt wird, und eine frühere kurze Mitteilung von Carrière[6]) erwähnen, welcher in alten Tuberkelbacillenkulturen die Anwesenheit eines lipolytischen Fermentes nachgewiesen hat, welches als eine wahre und echte Lipase im Sinne Hauriots zu deuten sein soll. Mit meinen im folgenden zu berichtenden Untersuchungen bezweckte ich die Lösung folgender Fragen:

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl, Turin.

2) Barlocco e Raffo, Autolisi e tossina ditterica. (Pathologica. 1910.) — Barlocco, Autolisi e tossina difterica. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. p. 43.)

3) Neuberg, Lipolyse und Agglutination. (Bioch. Zeitschr. Bd. 11. 1908. p. 400.)

4) Neuberg u. Rosenberg, Lipolyse und Agglutination und Hämolyse. (Berl. klin. Wochenschr. 1907. Januar.)

5) Neuberg u. Reicher, Lipolyse und Agglutination und Hämolyse. (Münchn. med. Wochenschr. 1907.)

6) Carrière, Sur l'existence d'un ferment soluble dans les cultures de bacilles de Koch. (Compt. rend. hebd. de la soc. de biol. T. 53. No. 11.)

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1) Ob das Diphtherietoxin an und für sich eine lipolytische Wirkung besitzt;

2) ob das Diphtherietoxin eine beschleunigende oder verzögernde Wirkung auf die Organlipase ausübt.

Um die erste Frage zu lösen, habe ich als Kontrolllipoidstoff folgende Varietäten benutzt:

1) Auf Phenolphthalein vollständig neutral reagierendes Oel, in diesem Zustande hergestellt nach dem auf p. 533 des Handbuches der chemischen Analyse von F. Hoppe und Seyler (8. Aufl.) beschriebenen Verfahren.

2) Mit $^1/_5$ Normalnatronlösung und Natriumkarbonat emulgiertes Oel.

3) Emulsion von Merckschem Lecithin.

4) Emulsion von Lecithin Agfa.

5) 1-proz. Lösung von Monobutyrin.

Dabei erhielt ich folgende Resultate:

1) Neutrales Oel + Diphtherietoxin.

ccm	neutr.	Oel	+ 1	ccm	Diphtherietox.	+ 2	ccm	Toluol					neutr. Reakt.
„	„	„	+ 1	„	„	+ 2	„	„	nach	3-std.	Verweilen bei 37 °C im Thermostat.	„	„
„	„	„	+ 1	„	„	+ 2	„	„	„	6-	„ „ dgl.	„	„
„	„	„	+ 1	„	„	+ 2	„	„	„	12-	„ „ „	„	„
„	„	„	+ 1	„	„	+ 2	„	„	„	24-	„ „ „	„	„
„	„	„	+ 1	„	„	+ 2	„	„	„	36-	„ „ „	„	„

2) Mit Natriumhydrat neutralisiertes Oel + Diphtherietoxin.

2 ccm schwach saures, mit 0,6 ccm $\frac{N}{5}$ Natron neutralisiertes Oel + 0,5 ccm Diphtherietoxin + 1 ccm Toluol.

Nach	3-stündigem	Verweilen	im	Thermostat	neutrale	Reaktion	
„	6-	„	„	„	„	„	„
„	24-	„	„	„	„	„	„

3) Aufschwemmung von Lecithin Merck + Diphtherietoxin.

5 ccm einer 4-proz. Aufschwemmung von Lecithin in Wasser + 1 ccm Toluol + 1 ccm Diphtherietoxin: Zur Neutralisierung

						sind	1,5	ccm	$\frac{N}{10}$	Natronlösung	nötig
nach	2-stündigem	Verweilen	im	Ofen		„	1,5	„	„	„	„
„	6-	„	„	„	„	„	1,5	„	„	„	„
„	22-	„	„	„	„	„	2,0	„	„	„	„
„	22-	„	„	„	„	„	(gekochtes Diphtherietoxin)				1,5 ccm

4) Aufschwemmung von Lecithin Agfa + Diphtherietoxin.

4 ccm einer 3-proz. Lecithinemulsion + 1 ccm Toluol: Nach 12-stündigem Verweilen im Thermostat sind zur Neutralisierung 0,65 ccm $\frac{N}{10}$ Natronlauge erforderlich (Durchschnittzahl von 3 Beobachtungen).

4 ccm einer 4-proz. Lecithinemulsion + 0,5 ccm Diphtherietoxin + 1 ccm Toluol: Zur Neutralisierung sind 0,75 ccm $\frac{N}{10}$ Natronlauge notwendig (Durchschnittszahl von 2 Proben).

5) 1-proz. Lösung von Monobutyrin Berthelot.

Technik: 1 ccm Monobutyrin Merck wird in 99 ccm destilliertem und sterilisiertem Wasser gelöst. Reaktion auf Phenolphthalein schwach sauer. Die folgende Titrierung geschieht vermittelst einer Lösung (1 : 500) von reinstem Natriumkarbonat mit Phenolphthalein als Indikator. Die Reagensröhrchen werden 30 Minuten im Thermostaten gelassen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5 ccm 1-proz. Monobutyrin werden neutralisiert durch 4,3 ccm (Durchschnittszahl von 4 Beobachtungen)
5 „ 1- „ „ + 0,5 Diphtherietoxin werden neutralisiert durch 4,8 ccm (Durchschnittszahl von 4 Beobachtungen)
5 „ 1- „ „ + 0,1 Diphtherietoxin werden neutralisiert durch 4,3 ccm (Durchschnittszahl von 4 Beobachtungen)

Aus obigen Resultaten geht deutlich hervor, daß das Diphtherietoxin selbst in starker Konzentration keine lipolytische Wirkung weder auf neutrales, noch auf neutralisiertes und mit Natriumkarbonat[1]) emulgiertes Oel entfaltet; daß man einen gewissen, wenn auch sehr geringen Grad von Fettspaltung beobachtet, wenn man eine Aufschwemmung von Lecithin oder eine bereits schwach saure Lösung von Monobutyrin anwendet, wobei jedoch von dem Diphtherietoxin größere Mengen als 0,1 ccm angewendet werden müssen.

* * *

Was die lipolytische Tätigkeit der Organe und des Blutes der verschiedenen Tiere anbelangt, so sei nur erwähnt, daß dieselbe in den einzelnen Organen und bei den verschiedenen Tierarten eine sehr verschiedene ist. Auch sind die Resultate je nach der angewendeten Untersuchungsmethode verschieden.

So zeigt beispielsweise das frische Blut unmittelbar nach seiner Entnahme aus dem linken Herzventrikel eines Mus musculus in einer Emulsion von Lecithin Merck eine sehr beschränkte Lipolyse, während dasselbe Blut, wenn man eine Aufschwemmung von Lecithin Agfa anwendet, ein ausgeprägtes lipolytisches Vermögen zeigt, welches dasjenige der Leber und der Milz übertrifft. Dies ist aus folgender Tabelle ersichtlich. (Bei den in denselben dargestellten Versuchen wurden die Organe unmittelbar nach dem Tode des Tieres unter Beobachtung der strengsten Asepsis aus den verschiedenen Körperhöhlen entnommen und in einem sterilen Mörser sorgfältig zerrieben; in die betreffenden zur Untersuchung bestimmten Röhrchen wird eine Oese des Breies, was ungefähr 0,05 g des Organs entspricht, eingeführt. Den einzelnen Röhrchen wurde 1 ccm Toluol zugesetzt, und nach 14-stündigem Stehen im Thermostaten wurde abgelesen.)

1) Man muß berücksichtigen, daß man bereits in bezug auf den Nachweis der Lipasen nach der Methode mit neutralem Oel bemerkt hat, daß die nicht stattgefundene Emulsion der zu untersuchenden Flüssigkeit mit dem neutralen Oel in einem gewissen Maße als Ursache negativer Befunde betrachtet werden kann. Aus diesem Grunde habe ich die Methode der Emulgierung auch bei nicht vollständiger Neutralisierung angewendet, wie wir bei den weiteren Versuchen sehen werden.

2) Um zu zeigen, innerhalb welcher Konzentrationsgrenzen das Diphtherietoxin eine lipolytische Tätigkeit zeigt, führe ich folgende Versuche aus meinen Protokollen an:

3 ccm einer Emulsion (1 : 80) von Lecithin Merck + 1 ccm Toluol werden, nach 18-stündigem Verweilen im Thermostaten, durch 7,15 ccm Natriumkarbonat (1 : 500) neutralisiert (Durchschnittszahl verschiedener Versuche).
3 ccm derselben Lecithinemulsion + 0,5 ccm Diphtherietoxin + 1 ccm Toluol werden durch 10,15 ccm Natriumkarbonat neutralisiert
3 ccm ders. Lecithinemuls. + 0,4 ccm Diphtherietox. + 1 ccm Toluol durch 0,9 ccm ders. Lös.
3 „ „ „ + 0,3 „ „ + 1 „ „ „ 9,0 „ „ „
3 „ „ „ + 0,2 „ „ + 1 „ „ „ 7,15 „ „ „

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Diphtherietoxin, welches in der Dosis von 0,5 ccm deutlich aktiv ist, in dem Maße wie seine Konzentration abnimmt, weniger aktiv wird und in der Dosis von 0,2 ccm indifferent ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5 ccm	Lecithin	Merck	(2,5	Proz.)	+ 1	Oese	des	Leberbreies	1,5 ccm	$\frac{N}{10}$	Natronlauge
5 „	„	„	(2,5	„)	+ 1	„	„	Milzbreies	1,7 „	„	„
5 „	„	„	(2,5	„)	+ 1	„	„	Nierenbreies	1,1 „	„	„
5 „	„	„	(2,5	„)	+ 1	„	„	Lungenbreies	1,0 „	„	„
5 „	„	„	(2,5	„)	+ 1	„	„	Nebennierenbreies	1,0 „	„	„
5 „	„	„	(2,5	„)	+ $^1/_2$	„	„	Blut	0,9 „	„	„
5 „	„	„	(2,5	„)	+ 1	„	„	Gehirnbreies	0,8 „	„	„
5 „	„	„	(2,5	„)	ohne	Zusatz	von	Organen	0,75 „	„	„

(Jede der obigen Zahlen entspricht dem Durchschnittsergebnis mehrerer Beobachtungen.)

Wenn man hingegen mit einer 2-proz. Emulsion von Lecithin Agfa und mit unmittelbar nach dem Tode des Tieres entnommenen Organen arbeitet, so erhält man folgende Resultate (Ablesung nach 18 Stunden):

2 ccm	Lecithinemulsion	+ 1	ccm	Toluol				0,3 ccm	$\frac{N}{10}$	Natronlauge
2 „	„	+ 1	„	„	+ 1	Oese	Milzpulpa	0,4 „	„	„
2 „	„	+ 1	„	„	+ 1	„	Leberpulpa	0,35 „	„	„
2 „	„	+ 1	„	„	+ 1	„	Mauseblut	0,6 „	„	„

(Jede dieser Zahlen stellt das Durchschnittsresultat mehrerer Proben dar.)

Was aber uns vor allem interessiert, das ist nicht die Wirkungsmodalität des in allen Organen und Säften des Organismus in verschiedenem Maße enthaltenen lipolytischen Fermentes, sondern die Untersuchung des Einflusses, welchen das Diphtherietoxin auf die durch die Organe bewirkte Lipolyse ausübt, d. h. der Tatsache, ob dieser Einfluß überhaupt nicht ausgeübt wird oder ein positiver oder ein negativer ist. Auch bei diesen Untersuchungen habe ich dieselben Methoden angewendet, über die ich im ersten Teil gegenwärtiger Arbeit berichtet habe.

Der Kürze und der Klarheit halber will ich mich darauf beschränken, die charakteristischsten Befunde zu berichten:

Versuche mit schwach saurem Monobutyrin Merck.

(Was die Technik anbelangt vgl. oben.)

5 ccm	1-proz.	Monobutyrin						4,3 ccm, 4,3 „	Durchschn.	4,3
5 „	1- „	„	+ 0,5	ccm	Diphtherietoxin			4,6 „ 4,8 „	„	4,7
5 „	1- „	„	+ 1	„	„			4,3 „ 4,3 „	„	4,3
5 „	1- „	„	+ 0,1	Oese	Leber			6,1 „ 6,1 „	„	6,1
5 „	1- „	„	+ 1	Tropf. einer Verdünng. (1 : 15) von Leber in physiol. Kochsalzlösung				4,6 „ 4,6 „	„	4,6
5 „	1- „	„	+ 1	Oese Leber + 0,5 ccm Diphtherietoxin				8,0 „ 8,1 „	„	8,05
5 „	1- „	„	+ 1	Oese Leber + 0,1 ccm Diphtherietoxin				7,0 „ 7,0 „	„	7,00
5 „	1- „	„	+ 1	Oese Leber + 0,002 ccm Diphtherietoxin				6,8 „ 6,6 „	„	6,7
5 „	1- „	„	+ 1	Tropfen Leberverdünnung + 0,05 ccm Diphtherietoxin				5,5 „ 5,8 „	„	5,65

Aus obiger Tabelle ersieht man, daß, wie wir bereits im ersten Teile dieser Arbeit hervorgehoben haben, das Diphtherietoxin in Dosen von 0,1 ccm oder weniger keine lipolytische Wirkung äußert. Dagegen befördert diese Dosis, und selbst bedeutend schwächere Konzentrationen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in deutlicher Weise die lipolytische Aktivität, welche die Organe ausüben, und zwar selbst wenn die angewendete Menge der Organe so gering ist, daß sie für sich allein keine merkbare lipolytische Tätigkeit mehr entfalten würde.

* * *

Bei anderen Versuchen haben wir den Einfluß untersucht, den das Diphtherietoxin auf die Lipolyse ausübt, welche die Organe in einer vermittelst $\frac{N}{5}$ Natron hergestellten Oelemulsion bewirken, auf welche Emulsion das Diphtherietoxin für sich allein keine fettspaltende Wirkung ausübte:

2 ccm Olivenölemulsion + 1 ccm Toluol (nach 12-stündigem Verweilen im Thermostaten) $\frac{N}{10}$ Natron	0,8 ccm 0,7 „
2 ccm Olivenölemulsion + 1 Oese von 12 Stunden im Eisschrank stehen gebliebenen Schafmilzbrei + 1 ccm Toluol (nach 12-stündigem Verweilen im Thermostaten) $\frac{N}{10}$ Natron	0,8 „ 0,7 „
2 ccm Olivenölemulsion + 1 ccm Toluol + 0,5 ccm Diphtherietoxin (nach 12-stündigem Verweilen im Thermostaten) $\frac{N}{10}$ Natron	1,1 „ 1,1 „
2 ccm Olivenölemulsion + 0,5 ccm Diphtherietoxin + 1 ccm Toluol (nach 12-stündigem Verweilen im Thermostaten) $\frac{N}{10}$ Natron	0,8 „ 0,8 „

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß das an und für sich inaktive oder fast inaktive Diphtherietoxin in dem Röhrchen, welches eine in diesem Fall ebenfalls inaktive (alte) Milzpulpa enthielt, eine prompte Reaktivierung derselben bewirkt, und somit, wenn wir diesen Befund mit demjenigen der vorigen Tabelle (0,05 ccm Diphtherietoxin + 1 Tropfen Leberverdünnung + 5 ccm Monobutyrin) zusammenhalten, wie ein wahrer und echter positiver Katalysator gewirkt hat. Hierfür sprechen auch noch mit überzeugender Beweiskraft die Zahlen folgender Tabelle.

Versuch mit Emulsion von Lecithin Agfa.

(3-proz. Emulsion von Lecithin Afga in physiologischer Kochsalzlösung. Als Organextrakt benutzte ich ein 36 Stunden steril im Eisschrank aufbewahrtes und mit 2 Teilen einer 0,9-proz. physiologischen Kochsalzlösung verdünntes Extrakt aus Kalbsmilz.)

2 ccm	Lecithinemuls.	(3 %)						$\frac{N}{10}$	Natronlös.	0,35 ccm 0,4 „
2 „	„	(3 %) + 0,5 ccm	Diphtherietoxin					„	„	0,6 „ 0,6 „
2 „	„	(3 %) + 0,5 „	„	+ 0,2 ccm	Milzextrakt			„	„	0.8 „ 0,8 „
2 „	„	(3 %) + 0,5 „	„	+ 0,4 „	„	„	„	„	0,85 „ 0,75 „
2 „	„	(3 %) + 0,1 „	„	+ 0,2 „	„	„	„	„	0,55 „ 0,55 „
2 „	„	(3 %) + 0,01 „	„	+ 0,2 „	„	„	„	„	0,4 „ 0,45 „
2 „	„	(3 %) + 0,2 „	Milzextrakt					„	„	0,4 „ 0,4 „

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß der Zusatz einer Menge des Diphtherietoxins, welche für sich allein inaktiv war, eine Aktivierung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des an und für sich ebenfalls aktiven lipolytischen Organfermentes bewirkte.

Bei dieser Reihe von Versuchen haben wir, als wir auf bedeutend schwächere Verdünnungen des Diphtherietoxins (0,01) heruntergingen, keine Schwankungen im Vergleich zu den Kontrollen beobachtet.

* * *

Aus der Gesamtheit meiner Untersuchungen kann man somit folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1) Das Diphtherietoxin übt an und für sich weder auf neutrales Oel, noch auf neutralisiertes und mit Natriumkarbonat emulgiertes Oel eine lipolytische Wirkung aus, während es einen geringen Grad von Fettspaltung bewirkt, wenn der Spaltungsprozeß bereits eingeleitet ist (saure Oele, Lecithine, saures Monobutyrin).

2) Das Diphtherietoxin ist imstande, welches auch das Untersuchungsverfahren sei, stets eine Verstärkung bzw. ein Reaktivierung des lipolytischen Vermögens der tierischen Organe zu bewirken.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Untersuchungen von rohem Hackfleisch, mit besonderer Berücksichtigung der Bacillen der Paratyphusgruppe.

[Aus der Leipziger Medizinischen Klinik.]

Von Dr. med. **Erwin Zweifel.**

Die Fleischvergiftungen, die bis vor kurzem als Vergiftungen im pharmakologischen Sinne aufgefaßt wurden, haben durch die Untersuchungen von Gaffky und Paak (1885) und von Gärtner (1888) eine überraschende Aufklärung erfahren; diese wiesen zuerst darauf hin, daß ein großer Teil der Fleischvergiftungen auf bakterieller Infektion beruhte. Das Verdienst, den ätiologischen Zusammenhang zwischen Infektion und Erkrankung erwiesen zu haben, gebührt H. Trautmann, der bei Gelegenheit der Düsseldorfer Fleischvergiftung aus der Milz eines gestorbenen Knaben den Paratyphus-B-Bacillus gezüchtet und mit den Fleischvergiftern identifiziert hat. Seitdem sind bei zahlreichen Fleischvergiftungsepidemieen Paratyphus-B-Bacillen (auch Bac. enteritidis Gärtner) nachgewiesen worden, sowohl in noch vorhandenen Fleischresten, als in dem Stuhl erkrankter Personen und in den Organen und dem Darminhalt Verstorbener.

In den letzten Jahren haben verschiedene Autoren den Paratyphus-B-Bacillus in der Außenwelt, auch bei gesunden Individuen häufig gefunden. So ist es Conradi, Gaehtgens u. a. gelungen, Paratyphusbacillen im Darminhalt gesunder Menschen nachzuweisen. Kothe will dieselben sogar aus dem Blute Gesunder gezüchtet haben, allerdings fand er sie nur vorübergehend und Immunkörperbildung fehlte im Blute dieser Menschen jedesmal.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Einzelheiten über die Technik der Untersuchungen, besonders in bezug auf die kulturellen und anderen Eigenschaften der Bacillen, sind leider nicht angegeben. Uhlenhuth und seine Mitarbeiter Hübener, Xylander und Bohtz konnten im Darme gesunder Schweine den mit dem Paratyphus B identischen Suipestifer-Bacillus — den vermeintlichen Erreger der Schweinepest und der nordamerkanischen Hogcholera — nachweisen, und zwar von 600 gesunden Schweinen bei 8,4 Proz. Hübener fand den Paratyphus-B-Bacillus unter 100 Wurstproben 6mal, Rommeler unter 50 Wurstproben 8mal und im rohen Hackfleisch unter 8 Proben sogar 5mal. Diese Untersuchungen ließen auf eine weitere Verbreitung der Angehörigen der Paratyphusgruppe schließen, deren Vorkommen ursprünglich als selten galt. Hübener selbst geht so weit, ihn als ubiquitär zu bezeichnen.

Trotz dieses angeblich häufigen Vorkommens gehören Paratyphusepidemieen immer zu den Seltenheiten. Ostertag hat aus der Fachliteratur für die Jahre 1880—1900 85 Massenerkrankungen mit ca. 4000 Krankheitsfällen zusammengestellt.

Die Infektion war meist auf den Genuß von Hackfleisch, Wurst, Schwartenmagen u. dgl. zurückzuführen, das infizierte Fleisch stammte gewöhnlich von notgeschlachteten Tieren.

Als nun im Sommer 1908 in Rudolf Virchow-Krankenhause ca. 100 Personen nach Genuß von rohem Hackfleisch erkrankten, erregte dies besonderes Aufsehen, weil zum erstenmal eine derartige Epidemie in einem größeren Krankenhause ausbrach, in dem man auf vollkommene hygienische Einrichtungen rechnen kann. Als Erreger dieser Fleischvergiftungen wurde der Paratyphus-B-Bacillus nachgewiesen. Ob das Fleisch von einem kranken Tier stammte, oder eine postmortale Infektion des genossenen Fleisches stattgefunden hatte, konnte nicht mehr festgestellt werden. Infolge dieser Epidemie hat das preußische Kultusministerium in einem Erlaß vom Januar 1910 vor dem Genuß von rohem Hackfleisch gewarnt und die Verabreichung desselben in geschlossenen Anstalten und Krankenhäusern untersagt auf Grund des zu dieser Epidemie von der Königl. wissenschaftlichen Deputation für das Medizinalwesen erstatteten Gutachtens; dieses lautet:

1) Von den im Jahre 1908 unter dem Personal des Rudolf-Virchow-Krankenhauses beobachteten Gruppenerkrankungen an Enteritis ist nur die am 30. August einsetzende Epidemie nachweisbar durch den Genuß von rohem Hackfleisch verursacht worden.

2) Die gesundheitsschädliche Wirkung des am 28. August verausgabten Hackfleisches ist auf Infektion mit sogenannten Enteritisbakterien zurückzuführen, die in unaufgeklärte Weise in das Fleisch gelangt waren und wahrscheinlich in dem rohen Hackfleisch sich vermehrt hatten.

3) Wie überhaupt vor dem Genuß von rohem Fleisch, so ist ganz besonders vor dem Genuß von rohem Hackfleisch wegen der mit ihm verbundenen Gefahren für die Gesundheit eindringlich zu warnen.

4) Der Verabreichung rohen Fleisches als Nahrungsmittel in geschlossenen Anstalten, wie Krankenhäusern, Gefängnissen u. dgl., ist unseres Erachtens dringend zu widerraten.

Der Erlaß des preußischen Kultusministeriums hat den Anstoß zu vorliegenden Untersuchungen gegeben. Im Leipziger Krankenhaus wird seit langen Jahren den Kranken rohes Hackfleisch als 2. Frühstück verabreicht, weil der verstorbene Direktor der medizinischen Klinik, Herr Geheimer Rat Curschmann, seinen Nährwert hoch einschätzte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Verabreichung geschah und geschieht noch mit der Vorsichtsmaßregel, daß das Fleisch frisch zur Verteilung kommt und darauf gehalten wird, daß die Kranken es sofort verzehren; Krankheitsfälle sind dadurch bis jetzt nie hervorgerufen worden.

Bevor wir uns nun der Besprechung unserer Untersuchungen zuwenden, sei es gestattet, kurz auf die Bedeutung der Fleischvergiftungen und die Rolle, welche dabei der Paratyphus-B-Gruppe zukommt, einzugehen.

Als Erreger der Fleischvergiftungen lassen sich in der Mehrzahl der Fälle Angehörige der Paratyphus-B Gruppe nachweisen.

Daneben kommen als Fleischvergifter noch in Betracht:

1) Proteus- und Coli-Bacillen,

2) Bacillus botulinus (Wurstvergifter).

Erstere haben in einigen Fällen erwiesenermaßen zu Massenerkrankungen geführt, doch ist hier stets der ätiologische Zusammenhang bei dem überaus häufigen Vorkommen der Proteus- und Coli-Bacillen sehr schwer zu erbringen.

Der Bacillus botulinus, der Erreger der Wurstvergiftung, kommt sehr selten vor. Erhitzen über 60° vernichtet ihn und die von ihm gebildeten Toxine. Führt er einmal zu einer Vergiftung, so ist die Prognose überaus ernst, die Mortalität beträgt etwa 40 Proz. der Erkrankten.

Im Vergleich zur Größe des Fleischkonsums kann man gewiß eher von der Seltenheit als von der Häufigkeit der Fleischvergiftungen sprechen. Mit dieser Behauptung soll nicht der Ansicht Hübeners entgegengetreten werden, daß eine große Anzahl von Paratyphusinfektionen, die ja meist unter dem Bilde einer Gastroenteritis verlaufen, überhaupt nicht beachtet und als solche erkannt werden.

Fahndet man nach dem Ursprung der Infektion bei den durch die Paratyphusbacillen hervorgerufenen Fleischvergiftungen, so muß man mit Hübener sagen, „daß den Ausgangspunkt der nach Fleischgenuß auftretenden Massenerkrankungen in allererster Linie das intra vitam infizierte Fleisch darstellt!“ Dafür spricht auch, daß die meisten Fleischvergiftungen nach Genuß von Fleisch notgeschlachteter Tiere auftreten, obwohl andererseits in einer Anzahl von Krankheitsfällen einwandfrei nachgewiesen worden ist, daß die Infektion des Fleisches nach der Schlachtung des Tieres, von außen, während oder nach der Zubereitung stattgefunden hat, entweder durch Kontakt mit bacillenhaltigem Material oder durch Bacillenträger.

Wenn auch meist durch den Genuß von rohem Fleisch eine Paratyphusinfektion hervorgerufen wird, so sind doch auch Epidemieen beschrieben, in denen Personen, die von demselben Fleisch in gekochtem Zustand genossen hatten, unter ähnlichen Erscheinungen erkrankten, wie diejenigen, die es roh verzehrt hatten. Es ist demnach sicher, daß der Paratyphus-B-Bacillus hitzebeständige Toxine bilden kann (vgl. Rolly, 1906).

Der von Hübener aufgestellte Satz, daß die Fleischvergiftungen meist durch intravital infiziertes Fleisch hervorgerufen werden, ließ es wünschenswert erscheinen, klarzustellen, ob bei vollkommen normalen, hygienischen Verhältnissen und bei einwandfreier Zubereitung wirklich öfters Angehörige der Paratyphus-B- bzw. enteritidis-Gärtner-Gruppe im rohen Hackfleisch zu finden sind und infolgedessen der Genuß des-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

selben als gesundheitsgefährlich im Sinne des Erlasses des preußischen Kultusministeriums zu bezeichnen ist.

Um diese Frage zu lösen, wurden von mir auf Veranlassung von Herrn Prof. Rolly eine größere Anzahl Fleischproben im hiesigen Krankenhause auf den Stationen, sofort nach Abgabe des Hackfleisches aus der Zentralküche, zu einer eingehenden bakteriologischen Untersuchung entnommen.

Bevor ich auf den Gang der Untersuchungen eingehe, sei über die Herkunft des Fleisches bemerkt, daß die Lieferungen jedes Jahr von der Krankenhausverwaltung ausgeschrieben und an 2 Fleischer der Stadt Leipzig, tageweise abwechselnd, vergeben werden. Das Fleisch wird frühmorgens in die Zentralküche des Krankenhauses gebracht (selbstverständlich wird es im ganzen Stück bezogen), an Ort und Stelle durch die Hackmaschine getrieben, dann in Portionen eingeteilt, in geschlossenen Gefäßen nach den Krankenstationen gefahren und dort von der Teeküche aus verteilt.

Bei voller Belegzahl werden für Kranke und Personal zusammen manchmal nahe an 1000 Hackfleischportionen (à 80 g) an einem Tage ausgegeben. Hierzu wird gewöhnlich das Fleisch einer Vorder- und einer Hinterkeule gebraucht.

Der Gang der Untersuchungen war derart, daß ich je 5—6 Proben aus je einer Fleischportion auf einer Krankenstation entnahm. Alle dabei verwendeten Instrumente waren unmittelbar vorher sterilisiert, die Proben kamen gleich in sterile Petri-Schälchen so daß eine nachträgliche Verunreinigung völlig ausgeschlossen war.

Die Petri-Schalen wurden einzeln mit Nummern versehen, die darin enthaltenen Proben in 2—3 etwa bohnengroße Stückchen zerlegt, von diesen eines auf Agarplatten verimpft, um ohne Anreicherung untersucht zu werden (dies Verfahren sei der Kürze wegen mit „A“ bezeichnet). Ein zweites Stück jeder Probe wurde vermittelst Anreicherung mit Succus papayae sicc. untersucht (Verfahren „B“). Mit der letzteren Untersuchungsmethode haben Uhlenhuth, Hübener, Rommeler u. a. in größerer Zahl positive Bacillenbefunde erhalten, die ohne Anreicherung negativ ausgefallen waren. Deshalb hielt ich mich genau an ihre Vorschriften: In Reagensröhrchen wurden etwa 10 ccm steriler Kochsalzlösung eingefüllt und einige Messerspitzen des zuvor 2 Stunden lang im Trockenschrank sterilisierten Succus papayae sicc. (Merck) hinzugegeben. Nach Zufügen der zu untersuchenden Fleischprobe verblieben die Röhrchen 2 Tage lang im Brutschrank bei 37°. Diese beiden Untersuchungsmethoden wurden bei allen Proben nebeneinander durchgeführt. Infolgedessen konnte durch unsere Untersuchungen gleichzeitig ermittelt werden, welche von beiden Methoden bessere Resultate zu geben imstande sei (s. später). Außer diesen beiden wurden noch einige andere Verfahren probeweise ausgeführt, aber bald wieder verlassen, da sie keine besseren Resultate ergaben als die Verfahren A und B. Einmal wurden z. B. 6 Proben 20 Stunden lang bei 37° C in Bouillon gehalten, beim Weiteruntersuchen konnten aber nur Proteus-Bacillen gefunden werden, die anscheinend alle anderen Bacillen überwuchert hatten, einige Male (5 und 5, 6 und 6 Proben) ließ ich das entnommene Material bei hoher Außentemperatur bis zur Untersuchung 9—10 Stunden stehen, um die Fleischproben gleich selbst als Nährboden zur Anreicherung zu benutzen, aber auch diese Methode erwies sich als zwecklos und wurde deshalb aufgegeben. Viermal wurden 250 g Fleisch in einem beliebigen Fleischerladen der Stadt gekauft, in 5—6 Portionen geteilt und in üblicher Weise untersucht. Alle übrigen Untersuchungen betreffen das Hackfleisch des Krankenhauses St. Jakob in Leipzig, im ganzen 194 an Zahl.

Der weitere Gang der Untersuchungen gestaltete sich nun derart, daß bei der Methode A von jeder Agarplatte nach etwa 20-stündigem Wachstum einige verdächtige Kolonieen in Bouillon abgeimpft und am folgenden Tage über Drigalski-Conradi-Platten geschickt wurden. Bei Methode B wurden Drigalski-Conradi-Platten mit ausgeglühter Platinöse oder vermittelst Drigalski-Spatels geimpft. Die weitere Untersuchung war dann für beide Untersuchungsmethoden die gleiche: Die auf den Platten rot gewachsenen Kolonieen blieben unberücksichtigt. Von den „blauen“ Kolonieen wurden jedesmal einige in Bouillon übergeimpft und nach 20-stündigem Wachstum von der Bouillon aus Kulturen auf allen für die Paratyphusgruppe in Betracht kommenden Nährböden angelegt (mit Lackmoid gefärbter Milch, Traubenzuckeragar, Lackmusmolke, Glyzerinagar, Kartoffel und Gelatine). Des weiteren wurde in allen Fällen die Indol-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

probe vorgenommen und hierzu 2—3 Tage alte Bouillon oder Peptonwasserkultur verwendet.

In einer der neuesten Arbeiten über Paratyphus, der Monographie von Hübener, wird hervorgehoben, daß menschen- oder tierpathogene Bacillen der Paratyphusgruppe niemals Indol bilden. Dieser negative Ausfall der Indolreaktion galt ursprünglich als Kennzeichen für die Paratyphusgruppe, durch neuere Arbeiten wurde aber der Wert der Indolprobe überhaupt in Frage gestellt, da auch bei den virulenten Paratyphus B- ebenso wie bei Suipestifer-Bacillen Indolbildung beobachtet wurde (Bjelaeff, Libmann, Smith, Poppe, Voges und Proskauer). Ueber diese Frage findet sich ein wichtiger Beitrag in der soeben erschienenen Arbeit von Huber. Dieser weist in zahlreichen Versuchen nach, daß pathogene Bacillen der Paratyphusgruppe bei Vornahme der Ehrlichschen Indolprobe niemals Indol bilden. Es darf also nur diese angewendet werden, da bei der bekannten Nitrosoindolreaktion — d. h. bei einem Zusatz von Nitritlösung und konzentrierter Schwefelsäure — auch bei pathogenen Paratyphusbacillen Indolbildung eintreten kann. In der Literatur fehlt nun in allen Fällen, wo Indolbildung bei virulenten Paratyphusbacillen angegeben ist, eine Angabe, ob die Ehrlichsche oder eine andere Indolprobe gemacht wurde; nach den neueren Untersuchungen ist anzunehmen, daß es sich immer um die Nitrosoindolreaktion gehandelt hat.

Uebrigens finden sich nach Huber im normalen Pferdedarm häufig Mikroorganismen, die die kulturellen Merkmale der echten Paratyphusbacillen besitzen, sich aber von diesen durch lebhafte Indolbildung auch bei Anwendung der Ehrlichschen Indolprobe unterscheiden. Derartige Bacillen sollen auch im normalen Schweinedarm vorkommen.

Bei unseren Untersuchungen von rohem Hackfleisch haben sich zu unserem eigenen Erstaunen echte Paratyphusbacillen nie gefunden. Zwar konnten von 248 untersuchten Fleischproben aus 19 Proben 23 Bakterienstämme gezüchtet werden, die sich kulturell dem Paratyphus B-Bacillus ähnlich verhielten, bei welchen aber die Lackmusmolke mit Ausnahme weniger Fälle den für die Paratyphusgruppe charakteristischen Farbenumschlag in Blau vermissen ließ. Entweder nahm sie eine schön sattrote Farbe an oder sie wurde zuerst ziegelrot, hellte sich dann auf und ließ einen ziegelmehlähnlichen Bodensatz ausfallen. Nur in 4 Fällen trat der Umschlag in Blau nach 1—3-tägigem Stehen ein. Auf Kartoffelnährboden zeigten sämtliche gefundenen Stämme ein gelbliches oder gelbbraunes Wachstum; in Gelatinestichkultur trat reichliches Wachstum ein, Verflüssigung fand nie statt; die Indolprobe nach Ehrlich blieb stets negativ. Alle Indolbildner, die wir bei unseren Untersuchungen fanden, zeigten die Merkmale der Proteus-Gruppe, insofern, als sie stinkende Kolonieen entwickelten.

Kein einziger dieser 23 paratyphusverdächtigen Stämme hat, wie später noch ausführlich zu besprechen ist, alle Bedingungen erfüllt, die die echten Paratyphus-B-Bacillen kennzeichnen, vor allen Dingen war der Agglutinationswert ein anderer als bei den echten Stämmen.

Weiterhin konnten typhusähnliche Bacillen von 6 verschiedenen Fleischproben isoliert werden. Von denselben ließen sich nur 4 auf Drigalski-Nährboden züchten. Auch hier handelte es sich in keinem Falle um echte Typhusbacillen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zweimal konnte ich bei meinen Untersuchungen den Bacillus pyocyaneus nachweisen, beide Proben waren am gleichen Tage auf der gleichen Station entnommen worden.

Bei weitem am häufigsten — schon unter den als paratyphusverdächtig in Betracht kommenden Stämmen 165mal — fanden sich Proteus-Bacillen. Auf den Platten, von denen eine größere Anzahl isolierter Kolonieen untersucht wurden, in mehreren Serien wurden je 12 Kolonieen abgeimpft — konnten stets Proteus-Bacillen nachgewiesen werden.

Unter den bereits erwähnten 223 paratyphusähnlichen Stämmen waren 12 von Agarplatten, also ohne Anreicherung, 10 dagegen nach 2-tägiger Verdauung mit Succus papayae gezüchtet worden, einer rührte von einer Fleischprobe her, die vor der Bearbeitung bei hoher Außentemperatur einige Stunden aufbewahrt worden war.

Die 6 typhusverdächtigen Stämme waren alle ohne Anreicherung gefunden worden.

Um nun festzustellen, ob wir es tatsächlich mit tier- oder menschenpathogenen Paratyphuskulturen zu tun hatten, wurden alle gefundenen verdächtigen Stämme auf ihre Agglutinationsfähigkeit geprüft. Die Bakterien wurden zuerst mit einem polyvalenten Paratyphusserum von Kolle und einem Enteritidis-Gärtner-Serum versetzt. Keine dieser Untersuchungen ergab eine positive Agglutination.

Ferner wurden mit sämtlichen verdächtigen Kulturen weiße Mäuse gefüttert, derart, daß die Tiere einen halben Tag hungern mußten und dann mit infizierter Bouillon durchtränktes Brot vorgesetzt erhielten, das sie gewöhnlich gierig verzehrten. Diese Versuche wurden mehrere Tage fortgesetzt, ohne daß ein einziges Mal auch nur eine Maus erkrankte.

Nun soll allerdings der Wert dieser Tierexperimente nicht überschätzt werden; denn es steht außer Frage, daß die für die Tiere spezifisch pathogenen Bacillen der Paratyphus- und Gärtner-Gruppe für Menschen nicht pathogen zu sein brauchen, und umgekehrt. Daß tierpathogene Stämme aber häufig Menschen krank machen können, ist durch zahlreiche Beispiele erwiesen und läßt auf eine nahe Verwandtschaft der paratyphusähnlichen Bacillen schließen. Uhlenhuth und Hübener erklären alle Angehörigen der Paratyphusgruppe als von einem saprophytischen Bacillus abstammend und durch häufige Passagen für je eine besondere Species pathogen geworden.

Zu häufigen Erkrankungen von Menschen führt z. B. der zur Vertilgung von Mäusen viel verwendete Loefflersche Mäusetyphusbacillus. Verschiedentlich erkrankten Personen, die mit dem Legen von Mäusetyphusbacillen beschäftigt sind, an akuter Enteritis; bei denselben konnte nachher im Stuhl der Loefflersche Mäusetyphusbacillus nachgewiesen werden; sogar Todesfälle sind durch Infektion mit dem Mäusetyphusbacillus herbeigeführt worden.

Ferner gehört zur Paratyphusgruppe der Bacillus psittacosis, der Erreger der infektiösen Enteritis der Papageien. Eine Uebertragung dieses Bacillus auf den Menschen ist in zahlreichen Fällen, besonders in Frankreich, beobachtet worden. In Deutschland erregte vor kurzem ein Fall besonderes Interesse, weil hier die Verkäuferin eines Papageien Bacillenträgerin von Paratyphus-B-Bacillen war. Der Papagei führte dann auch bei dem Käufer eine Infektion mit paratyphusähnlichem Verlaufe herbei. Nimmt man eine Infektion des Papageien durch die Verkäuferin an, so wäre der Paratyphusbacillus des Menschen durch das

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tier auf einen anderen Menschen übertragen worden (vgl. Hübener, Fleischvergiftungen. Jena 1910. p. 98).

Die Frage nach der Virulenz menschenpathogener Paratyphusbacillen für Tiere ist leichter zu beantworten, weil hier das Experiment zu Hilfe genommen werden kann. Nach Kolle und Hetsch können menschenpathogene Paratyphusstämme durch häufige Tierpassagen für Mäuse eine so hochgradige Virulenz erlangen, wie die im Handel befindlichen Loefflerschen Mäusetyphuskulturen. Im Gegensatz hierzu steht eine Mitteilung von Konrich, der bei einer schweren Paratyphusepidemie bei Verfütterung infizierten Materials an weiße Mäuse, Ratten, Meerschweinchen und junge Kaninchen diese Tiere nie sterben sah. Obgleich nach dem Gesagten menschenpathogene Paratyphusstämme häufig zugleich tierpathogen sind, so beweist doch gerade die Beobachtung Konrichs, daß es sich, auch wenn die Tierverfütterung negativ ausfällt, doch um menschenpathogene hochvirulente Bacillen handeln kann.

Wenn nun die von mir isolierten Kolonieen bei Tieren keine Krankkeitserscheinungen auslösen konnten, so ist doch zu berücksichtigen, daß das Fleischmaterial, aus dem diese Kulturen gezüchtet waren, stets gleich im Krankenhause von den Patienten verzehrt wurde und niemals Erkrankungen nach dem Genusse desselben auftraten. Diese Keime waren also auch nicht für Menschen pathogen. Daß bei dem großen Verbrauch an Hackfleisch im Leipziger Krankenhause im Laufe so langer Jahre niemals gehäufte Krankheitsfälle aufgetreten sind, läßt von vornherein vermuten, daß es sich auch bei den durch unsere Untersuchungen isolierten Bacillenstämmen nicht um virulente Paratyphusbacillen handeln kann.

Eine Bestätigung dieser Angabe scheinen auch die Agglutinationsversuche zu geben, auf die hier näher einzugehen ist.

Nachdem bei allen verdächtigen Stämmen die Agglutinationsproben negativ ausgefallen waren, entschloß ich mich, die Agglutinationsversuche nochmals mit verschiedenen anderen Paratyphusseris nebeneinander zu wiederholen. Gleichzeitig wurden die paratyphusverdächtigen Stämme sowohl von mir als auch von Herrn Privatdozent Dr. Paul Schmidt, dem ich für seine Nachuntersuchungen zu großem Danke verpflichtet bin, auf ihr kulturelles Verhalten untersucht. Während dieses keinerlei Aenderung gegen früher zeigte, fielen von den neuen Agglutinationsproben einige positiv aus. Das erste Mal war ein polyvalentes Paratyphusserum vom Institut Kolle und ein Enteritidis Gärtner-Serum verwendet worden. Jetzt wurden die Proben mit vier verschiedenen Paratyphusseris nebeneinander angestellt: Das zuerst verwendete sei mit Serum I bezeichnet (Titer 1 : 8000); weiter benutzte ich ein Serum, das mir aus dem Hygienischen Institute der Universität von Herrn Privatdozent Dr. P. Schmidt zur Verfügung gestellt war (Serum II, Titer 1 : 8000), ferner war mir auf mein Ersuchen vom Institut für Infektionskrankheiten in Berlin ein polyvalentes Paratyphusserum überlassen worden (Serum III), endlich war von einem Paratyphuspatienten des Krankenhauses Serum gewonnen worden (Serum IV). Mit diesen Sera fiel die Agglutination nun positiv aus für folgende 3 Stämme:

Stamm	III A 1	agglutiniert	mit	Serum	I 1:100
„	„	„	„	„	II 1:100
„	„	„	„	„	III 1:100

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stamm	III	A	4	agglutiniert mit Serum	I 1:100
„	„			„ „ „	II 1:100
„	„			„ „ „	III 1:100
„	„			„ „ „	IV 1:100

nach 1-stündigem Stehen bei Brutschranktemperatur.

Stamm	V	B	8	agglutiniert mit Serum	I 1:100
„	„			„ „ „	II 1:100
„	„			„ „ „	III 1:100

Eine Agglutination von 1 : 150 trat nur bei Stamm III A 4 ein, jedoch erst nach ca. 4-stündigem Stehen bei 37° C, eine höhere Agglutination wurde nirgends erzielt.

Nun ergaben aber diese 3 Stämme bei den Kontrolluntersuchungen mit normalem Pferdeserum auch eine Agglutination bis 1 : 100, allerdings trat diese erst nach mehreren Stunden ein und war etwas weniger deutlich als mit Paratyphusserum.

Nach dem Gesagten ist mit Sicherheit die hier beobachtete Agglutination als nicht spezifisch zu bezeichnen. Auffallend war, daß eine solche bei der ersten Untersuchung überhaupt nicht eintrat, nicht einmal bei einer Verdünnung von 1 : 50, jetzt aber auch bei dem schon anfangs verwendeten Serum bis 1 : 100.

In gleicher Weise wie die Paratyphus B-ähnlichen wurden auch die typhusverdächtigen Kulturen einer zweiten Untersuchung unterzogen. Von den 6 verdächtigen Stämmen schieden 2 aus, weil sich bei ihnen überhaupt kein Wachstum auf Drigalski-Nährboden erzielen ließ. Bei 2 Stämmen fiel die Agglutination positiv aus mit zwei verschiedenen Seris:

Stamm	VII	A	10	agglutiniert 1:100	nach 1 Stunde bei 37° C
„	XII	A	9	„ 1:100	

Beide Stämme agglutinierten aber ebenfalls mit normalem Pferdeserum; sogar die Kontrollen mit physiologischer NaCl-Lösung ergaben nach etwa 4 Stunden in etwas geringerem Grade ebenfalls positive Agglutination. Also auch hier fehlte die spezifische Agglutination.

Fassen wir die Ergebnisse unserer Untersuchungen kurz zusammen, so sind im rohen Hackfleisch pathogene Bacillen niemals gefunden worden; 23 paratyphusähnliche und 6 typhusverdächtige Stämme wurden isoliert. Verfütterung dieser Kulturen rief keinerlei Krankheitserscheinungen bei den Versuchstieren hervor. Das vollständige Fehlen der Agglutination bei der ersten Untersuchung und das sonstige Verhalten machen es wahrscheinlich, daß es sich trotz der kulturellen Aehnlichkeit mit der Paratyphus- bezw. Typhusgruppe hier um der Proteus-Gruppe verwandte Mikroorganismen handelte. Keinesfalls wäre es berechtigt, diese Bacillen, die ja auch nicht imstande waren, die zuerst gerötete Lackmusmolke wieder in Blau umschlagen zu lassen, als Paratyphus- oder Gärtner-Bacillen zu bezeichnen. (Mit Paratyphus-A-Serum war die Agglutination stets negativ.)

Ein Nebenbefund sei besonders erwähnt, weil er beweist, daß für die Zubereitung aller Speisen die peinlichste Sauberkeit und vor allem der Schutz vor Verunreinigung von außen ein unbedingtes Erfordernis ist. Es fanden sich nämlich auf mehreren Platten einer Untersuchungsreihe Maden in größerer Zahl. Das untersuchte Material war aus einem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fleischerladen als gehacktes Fleisch eingekauft worden. Von denselben Proben konnten außerdem noch reichlich Coli- und Proteus-Bacillen, sowie allerlei Kokkenarten gezüchtet werden. Es hatten offenbar Fliegen auf diesem Fleisch ihre Eier und zugleich noch zahlreiche andere Keime deponiert. Wenn auch keine virulenten Krankheitserreger hier gefunden wurden, so ist doch eine solche Verunreinigung zum mindesten im höchsten Grade ekelhaft und immerhin nicht ganz unbedenklich, da virulente Mikroorganismen durch dieselben Fliegen auf das Fleisch gelangen konnten. Uhlenhuth und Hübener sprechen die Vermutung aus, daß durch Fliegen öfters Krankheiten übertragen werden als man gewöhnlich annimmt. Vor Jahren hat schon Curschmann den Nachweis erbracht, daß Fliegen, die in der Typhusbaracke des hiesigen Krankenhauses gefangen wurden, mit Typhusbacillen behaftet waren. Denselben Versuch hat in diesem Jahre Bertarelli mit Fliegen, die aus Häusern kamen, in denen sich Typhuskranke befanden, wiederholt und ebenfalls Typhusbacillen an ihnen gefunden.

Aus alledem kann die Forderung aufgestellt werden, daß nicht nur in Krankenhäusern alle Lebensmittel verschlossen aufbewahrt werden sollen, sondern daß auch durch polizeiliche Vorschriften für alle Lebensmittelgeschäfte darauf hingewirkt werde, da nur so die Möglichkeit einer pathogenen Infektion der Nahrungsmittel von außen eingeschränkt werden kann.

Unsere negativ ausgefallenen Untersuchungen bestätigen die Annahme, daß das Vorkommen des Paratyphus-B-Bacillus im Fleisch gesunder Schlachttiere ein seltenes und wohl ausnahmsweises Ereignis ist. Wenn im Leipziger Krankenhaus St. Jakob jetzt manchmal nahe an 1000 Portionen Hackfleisch an einem Tage verabreicht werden und dies Jahrzehnte lang geschehen konnte, ohne daß je durch den Genuß desselben Erkrankungen hervorgerufen worden sind, so sollte man die Bedenken gegen die Verabreichung von rohem Hackfleisch fallen lassen, um so mehr, als es in verschiedener Beziehung für Kranke ein unersetzliches Nahrungsmittel darstellt. Gewiß könnte man vereinzelte durch Genuß von rohem Hackfleisch hervorgerufene Paratyphusepidemieen verhindern, wenn man die Verabreichung von rohem Fleisch überhaupt verbieten wollte, aber dann müßte dieses Verbot mit gleicher Berechtigung auf den Genuß von rohem und geräuchertem Schinken und von ungekochter Wurst ausgedehnt werden, haben doch Rommeler, Rimpau und Hübener aus Wurst und König aus geräuchertem Schinken Paratyphus-B-Bacillen gezüchtet; übrigens sind diese auch in gekochter Leberwurst, Schwartenmagen u. dgl. gefunden worden.

Gerade die neue Fleischvergiftungsepidemie durch Paratyphusbacillen in Leipzig im November 1910, die in einem der besten Fleischerläden ihren Ursprung genommen hat, ist offenbar auf Infektion durch Wurst zurückzuführen; einige Angestellte dieses Geschäftes, die zu gleicher Zeit mit den übrigen erkrankt sind, geben an, daß sie aus Widerwillen stets den Genuß von rohem Fleisch gemieden, dagegen von den verschiedenen Wurstwaren gegessen haben (Rolly). Schließlich bliebe fast kein Nahrungsmittel übrig, das nicht mitunter einmal ähnliche Erkrankungen herbeigeführt hätte. Findet sich doch in der Literatur eine Paratyphusepidemie von 51 Fällen in Hartum, die nach dem Bericht über das Gesundheitswesen des preußischen Staates auf Milchinfektion in einer Sammelmolkerei beruhte. Häufig sind, besonders in letzter Zeit,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Paratyphusfälle nach dem Genuß von Konditoreiwaren, Vanilleeis, Torten, Cremeschnitten und Eisspeisen aller Art aufgetreten. Erwähnt sei endlich die Vergiftungsepidemie nach Genuß von Bohnengemüse, an der im Jahre 1906 250 Angestellte eines Leipziger Warenhauses erkrankten. Aus dem verschiedenen Konservenbüchsen entstammenden Gemüse konnte Rolly Paratyphus-B-Bacillen isolieren, die hitzebeständige Toxine bildeten.

Schon allein diese wenigen aus der Literatur herausgegriffenen Fälle von Paratyphusinfektionen beweisen wohl, daß nicht jedes Nahrungsmittel, dessen Genuß gelegentlich zu Erkrankungen geführt hat, vom Speisezettel eines Krankenhauses gestrichen werden kann. Wenn auch Konditoreiwaren in der Krankenhauskost keine wesentliche Rolle spielen, so sind doch roher Schinken, Würste, Gemüsekonserven u. dgl. für große Betriebe fast unentbehrliche Nahrungsmittel geworden.

Gerade in Krankenhäusern und allen größeren öffentlichen Anstalten ist aber durch die Kontrolle des Personals, auch die gegenseitige, eine gewisse Garantie geboten, daß die Zubereitung der Speisen, speziell des Hackfleisches, in hygienisch einwandfreier Weise durchgeführt wird.

Literatur.

1) Gärtner, Ueber die Fleischvergiftung in Frankenhausen a. Kyffhäuser und der Erreger derselben. (Corresp.-Bl. d. Allgem. ärztl. Ver. v. Thüringen. 1888. No. 9. Ref. v. Gaffky u. Paak.)
2) Gaffky u. Paak, Ein Beitrag zur Frage der sogenannten Wurst- und Fleischvergiftungen. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 6. 1890.)
3) Trautmann, H., Der Bacillus der Düsseldorfer Fleischvergiftung und die verwandten Bakterien der Paratyphusgruppe. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 45. 1903. p. 139.)
4) Uhlenhuth, Hübener, Xylander u. Bohtz, Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 27. 1908. p. 225.)
5) Hübener, E., Ueber das Vorkommen von Bakterien der Paratyphusgruppe in der Außenwelt. (Dtsche med. Wochenschr. 1908. p. 1044.)
6) — —, Berlin. klin. Wochenschr. 1910. p. 1099 ff.
7) — —, Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen, ihre Entstehung und Verhütung. Jena (Gust. Fischer) 1910.
8) Huber, Beitrag zur Bakteriologie des normalen Pferdedarmes, mit besonderer Berücksichtigung der Bakterien der Coli-Typhus-Gruppe. [Inaug.-Dissert.] Leipzig 1910 u. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910.
9) Uhlenhuth u. Hübener, Ueber die Verbreitung der Bakterien der Paratyphus-B- und Gärtner-Gruppe und ihre Beziehungen zur gastrointestinalen Form der Fleischvergiftungen. (Med. Klinik. Bd. 48. 1908. p. 1828.)
10) Rimpau, Zur Frage der Verbreitung der Bacillen aus der Paratyphusgruppe. (Dtsche med. Wochenschr. 1908. p. 1045.)
11) Rolly, Zur Kenntnis der durch das sogenannte Bact. paratyphi hervorgerufenen Erkrankungen. (Dtsches Arch. f. klin. Med. Bd. 87 u. München. med. Wochenschr. Bd. 85. 1907.)
12) — —, München. med. Wochenschr. 1906. No. 37.
13) — —, ibid. 1911.
14) Rimpau, Klin. Jahrb. Bd. 22. 1910. p. 499.
15) Kolle u. Hetsch, Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten. 1908.
16) Drewes, Die Aetiologie des Paratyphus B. (Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1908. No. 9.)
17) Konrich, Eine Paratyphusepidemie in einem Krankenhause. (Klin. Jahrb. Bd. 19 Heft 3.)
18) Kothe, Med. Klinik. Bd. 23. 1910. p. 907—910.
19) Koenig, Zur Frage der Fleischvergiftungen durch den Bacillus paratyphi B. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 2.)
20) Bertarelli, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910. Heft 5. p. 486—495.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

21) Rommeler, Ueber Befunde von Paratyphusbacillen in Fleischwaren. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 5. p. 501.)
22) — —, Paratyphusbacillen im Transporteis der Seefische. (Dtsche med. Wochenschr. 1909. No. 20.)
23) Ostertag, Was bedeutet der Befund eines Bakteriums mit den Eigenschaften des Bacillus paratyphi B im Fleische? (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 19. Heft 3.)
24) Conradi, Ueber alimentäre Ausscheidung von Paratyphusbacillen. (Klin. Jahrb. Bd. 21. 1909.)
25) Bjelaeff, Ueber einige biochemische Eigenschaften der Colibacillengruppe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. 33. 1903. p. 513.)
26) Libmann, On the bacteriologic study of a case of paracolon infection etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. 34. 1904. p. 507.)
27) Poppe, Beiträge zur vergleichenden Biologie des Bac. suipestifer und des Bac. paratyphi B. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 5. 1908/09. p. 42.)
28) Smith, Th., The Hogcholera group of bacteria. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. 1894. p. 231.)
29) Voges u. Proskauer, B., Beitrag zur Ernährungsphysiologie und zur Differentialdiagnose der hämorrhagischen Septikämie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 28. 1898. p. 20.)

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über Culiciden.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio** und **J. Rochaz de Jongh.**

Die Resultate unserer Beobachtungen über Culiciden vom 1. Nov. 1909 bis Ende Oktober 1910 können zusammengefaßt werden, wie folgt:

a) Beobachtungen über die Ueberwinterung der Culiciden.

In der Orbeebene (Kanton Waadt) überwinterten 1909—1910 ziemlich zahlreiche Larven von Culex. Am 6. Nov. 1909 (Wassertemp. + 4°) fanden wir in dieser Ebene junge, 2—3 Tage alte Larven. Im Walde von Montcherand (Orbe) haben sich die mit totem Laub angefüllten Vertiefungen des Bodens, die seit Oktober trocken lagen, nach einer Regenwoche (19.—26. Dez.) mit Wasser angefüllt. Am 26. Dez. (Wasser- und Lufttemp. + 2° 10 Uhr morgens) ist das Wasser dieser Pfützen mit einer dünnen Eisdecke überzogen und beherbergt unzählbare, erst ausgeschlüpfte junge Larven von Culex, die nur von im toten Laube abgesetzten Eiern herrühren konnten. Am 25. Dez. hatte die Temperatur in Orbe 16° erreicht. Der Winter war übrigens so wenig kalt, daß wir in denselben Pfützen schon am 16. Jan. 1910 (Wassertemp. + 1°, Lufttemp. + 6°) Larven von Corethra velutinus fanden, welche gewöhnlich nicht vor Februar oder März darin zu finden sind. Die Culexlarven nahmen nur in der ersten Märzwoche an Größe zu (Wassertemp. + 3°, Lufttemp. + 7°).

In gleicher Weise, wie im Winter 1908—1909, überwinterten 1909 bis 1910 die Larven von Anopheles bifurcatus in ziemlicher Menge in der Orbeebene. Zum ersten Male in der Orbeebene fanden wir auch überwinternde Larven von A. maculipennis. Es waren ihrer drei inmitten Schilfstückchen in einem Abzugskanal, der auch zahlreiche Larven von A. bifurcatus enthielt (16. Jan. 1910 Wassertemp. + 1°, Lufttemp. + 6°). Wir beobachteten schon die Ueberwinterung der Larven von A. maculipennis im Veltlin (Italien) während des Winters

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1905[1]). Bemerkenswert ist, daß wir in denselben Pfützen in Sondrio, in welchen wir im Winter 1905 Larven von A. maculipennis fanden, am 24. März 1910 (Wassertemp. + 10°, Lufttemp. + 13°) viele halbgroße Larven dieser Art fanden. Sehr wahrscheinlich hatten die Larven überwintert. Somit kann es nicht mehr bezweifelt werden, daß in nicht allzu kalten Wintern A. maculipennis im Larvenzustande überwintern kann, auch im Norden Italiens und in der Schweiz.

Sehr zahlreiche Puppen von Culex fanden wir in der Orbeebene um den 23. April 1910 (Wassertemp. + 6°, Lufttemp. + 5° 7 Uhr abends). Aus diesen Puppen entwickelten sich im Laboratorium am 25. April (Temp. + 17°) 35 ♂ und 31 ♀ von C. nemorosus. 3 Larven von Anopheles, an demselben Tage eingefangen, verpuppten sich im Laboratorium am 25. April und entwickelten am 4., 5. und 7. April 1 ♂ und 2 ♀ von A. bifurcatus.

In der ersten Woche des Mai wurden die Entwickelungen von Culex sehr zahlreich in den Pfützen der Orbeebene. Am 8. Mai 1910 (Wassertemp. + 8°, Lufttemp. + 9°), lag auf der Oberfläche des Wassers dieser Pfützen eine große Menge Hüllen von Culex-Puppen.

b) Beobachtungen über die Verbreitung von A. maculipennis und A. bifurcatus im Jahre 1910.

In unseren Beobachtungen von 1908—1909[2]) wiesen wir auf die Tatsache hin, daß A. maculipennis sowohl im Kanton Waadt (Orbeebene), wie auch im Veltlin (Sondrio) sehr selten gefunden worden war. Im Jahre 1910 ist diese Art wieder sehr häufig geworden, wie im Jahre 1908[3]) und, wie schon gesagt, hat sie im Larvenzustande überwintert. Während des Monats September waren die Larven dieser Art sehr zahlreich in den Pfützen und Gräben der Ebenen von Sondrio und Busteggia (Veltlin). Diese Beobachtungen über die quantitativen Schwankungen von A. maculipennis in verschiedenen Jahrgängen bieten ein großes Interesse, wie wir es schon in früheren Beobachtungen sagten, in bezug auf die Schwankungen der Malariakurven in den nordischen Malariazonen. Wir bemerkten dieses Jahr auch eine starke Zunahme der Larven von A. bifurcatus in der Orbeebene. Wir sahen nämlich die gleichen Zustände wie vor 10 Jahren sich einstellen, als wir unsere Beobachtungen anfingen. In vielen Pfützen und Gräben, aus welchen seit etlichen Jahren diese Art verschwunden war, ist sie dieses Jahr wieder sehr häufig aufgetreten. Am 5. Sept. 1910 fand man in diesen Pfützen 1—3 Tage alte Larven und einige Puppen. Bemerkenswert ist, daß die Zunahme der Larvenzahl von Anopheles mit einer enormen Menge Culex im Sommer 1910 übereinstimmte, sei es im Kanton Waadt, sei es im Veltlin. Die Erläuterung dieser Tatsache ist wahrscheinlich im milden Winter 1909—1910 zu suchen, der die Ueberwinterung einer großen Masse Culicidenlarven erlaubte, welcher eine enorme Vermehrung im Frühling und Sommer folgte.

c) Beobachtungen über Culicidenbrutplätze.

Wir zeigten letztes Jahr[4]), daß wir in einem zur Torfgewinnung in der Orbeebene angelegten Kanal, der später vernachlässigt worden war, keine Culicidenbrutplätze gefunden hatten in denjenigen Teilen, in

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. p. 468.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. p. 21.
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. p. 553.
4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. p. 23.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

welchen eine gewisse Strömung vorhanden war. Wir setzten voraus, daß die Vernachlässigung dieses Abzugskanals und das Entstehen eines aquatischen Pflanzenwuchses ihn in einen Culicidenbrutplatz umwandeln könnte. Unsere Voraussetzung bestätigte sich am 17. Juli 1910 (Wassertemp. + 24°, Lufttemp. + 25°). In den entfernteren Teilen des Kanals sind tote Stellen und Pflanzenwuchs entstanden (Schilf, Carex, Ranunculus aquaticus, Equisetum). An diesen Stellen haben wir Larven von A. bifurcatus und eine Larve von A. maculipennis gefunden. Wir konnten ebensolche Tatsachen im Kanton Waadt, sowie im Veltlin feststellen nach Anlage von Straßen, Eisenbahn, Steingruben etc. in den auf diese Art entstandenen Höhlungen. Die große Wichtigkeit der steten Ueberwachung solcher Erdarbeiten, hauptsächlich in den an Malaria, Gelbfieber, Filariasis leidenden Gegenden, um die Entstehung von Infektionszentren zu verhüten, läßt sich leicht erkennen.

Wir haben wiederum gesehen, wie Regentonnen zu Culicidenbrutplätzen werden können in Ortschaften, aus welchen die Culiciden seit Jahren fast verschwunden waren. In einem Hause der Stadt Orbe, welches Haus seit mehreren Jahren frei von Mücken war, wurde man dieses Jahr wieder stark belästigt durch eine in einem Nachbargarten befindliche Regentonne.

Wie wir beobachten konnten, setzten die dieses Jahr in Menge auftretenden Culiciden überall eine enorme Zahl Eier ab. Die Jauche der Misthaufen enthielt Tausende von Culex-Larven; in einer Regentonne konnten wir jeden Tag Hunderte von Eierkähnchen von C. pipiens finden. Ueberall wurde im Sommer 1910 über die Mückenplage geklagt, in Städten, Bädern und Gebirgsorten bis über 1500 m ü. d. M. Wahrscheinlich hat der öftere Regen dieses Sommers die Culiciden zum Aufsuchen eines Schutzes in die Wohnräume getrieben.

Wir sahen auch unsere letztjährige Beobachtung über den Zoccasee (1800 m, Veltlin) bestätigt: Im See selbst keine Puppen, in nebenanstehenden Pfützen unzählbare Puppen von C. nemorosus (24. Juli 1910).

In einer Pfütze der Orbeebene, die viel altes Eisen, sowie gelbliches, eine stark blaue Reaktion mit Ferrocyancalium gebendes Wasser enthielt, fanden wir eine große Masse Larven von C. pipiens, die ihre ganze Entwickelung in dieser Pfütze durchmachten. In anderen, mit Straßen- und Hausabkehrmaterial halb angefüllten Pfützen, also in stark durch organische Stoffe verunreinigtem Wasser waren die Culex-Larven auch sehr zahlreich.

d) Beobachtungen über Mückenstiche.

Die Culex fingen zu stechen an in den Zimmern in Orbe in der Nacht vom 22.—23. Mai 1910 (Gewitter). Am 29. Mai fingen sie an, in der Orbeebene in großer Menge zu stechen, am hellen Tage im Wald (+ 25°). Während des ganzen Sommers und auch im September haben die Culex bei Tag gestochen, im Walde und auch in der Sonne. Am 29. Mai 1910 fanden wir in der Orbeebene 2 Uhr nachmittags in heller Sonne eine Menge Culex, die auf weidenden Füllen Blut saugten. Obgleich dieses Jahr die Anopheles zahlreich waren, haben sie uns nie bei Tage gestochen. Wir konnten uns noch einmal überzeugen, daß an den Tagen, wo starker Wind weht, auch bei hoher Temperatur, die Culiciden weder umherfliegen noch stechen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

e) Beobachtungen über das Eierabsetzen von C. cantans.

♂ und ♀ von C. cantans, im Laboratorium entwickelt, wurden in Glasschachteln mit einer Zuckerlösung gestellt. Sie ernährten sich ganz gut mit dieser Lösung. 8 Tage später wurde eine dieser Schachteln geöffnet, 3 ♀ flogen heraus und setzten sich augenblicklich auf einen von uns und stachen ihn, obgleich die Sonne im Zimmer schien (+ 22°). Diese ♀ wurden eingefangen und in eine Wasser enthaltende Glasschachtel gestellt; sie setzten Eier ab, welche sich nicht entwickelten. Die mit Zuckerlösung genährten ♀ setzten keine Eier ab. Wir konnten also wieder keine Eier haben von Culex, die nicht Blut gesaugt hatten.

f) Beobachtungen über den Kampf gegen Culiciden.

Wir erwähnten schon, daß die Mücken dieses Jahr eine wahre Plage für manchen Ort bildeten. Es würde uns nicht wundern, wenn man sagen würde, die Bekämpfung dieser Dipteren erziele keine Resultate. Eine wichtige Bemerkung muß gemacht werden, die wir schon anderswo beschrieben: Nicht die Nichtigkeit der Bekämpfungsmittel muß beschuldigt werden, sondern aber die Nichtanwendung der Mittel, welche alle diejenigen, welche sich seit Jahren mit dieser Frage beschäftigen, immer wieder empfehlen. Man ist zu viel gewöhnt, die Culiciden als ein nötiges, unnütz zu bekämpfendes Uebel zu betrachten und vielerorts sogar ihr Vorhandensein zu verheimlichen, um ja nicht die Fremden zu verscheuchen, als daß irgend etwas gegen diese Plage geschähe. Die energischen, in Amerika und tropischen Ländern angewandten Maßregeln beiseite lassend, kann man sagen, daß nur in einigen Städten Deutschlands eine regelrechte Bekämpfung der Culiciden in Stand gesetzt worden ist. In allen anderen Ländern Europas wird so gut wie nichts gemacht oder sind die Maßnahmen unzulänglich und ungenügend, was dann die Bekämpfung der Mückenplage als unmöglich erscheinen läßt. Wie einer von uns[1]) schon bemerkte, kann nur dann die Bekämpfung anfangen, wenn von vornherein das Prinzip aufgestellt wird, daß niemand das Recht besitzt, nur weil es ihm paßt, stagnierendes Wasser in Gemüse-, Blumen- oder Obstgärten zu halten und somit die ganze Umgebung zu infizieren. Demnach sollte, wie es für andere Krankheitsursachen schon geschieht, ein Einverständnis eintreten, welches die Ueberwachung der stagnierenden Gewässer in Privatgärten, sowie die Anwendung gewisser Maßregeln zur Verhütung ihrer Umwandlung in Culicidenbrutplätze erlauben würde. Solange dies nicht geschieht, ist jede Bekämpfung illusorisch, denn Petrolierung, Bildung einer Strömung in öffentlichen Sümpfen hat keinen Nutzen und keinen Sinn, wenn in Privatgärten Culicidenbrutplätze bestehen bleiben, welchen täglich Tausende von Mücken entsteigen. Zudem spielen die in der Nachbarschaft von Städten oder Dörfern existierenden und beschuldigten Sümpfe nur eine sehr kleine Rolle in der Infektion der Häuser durch Mücken; die Infizierung findet auf dem Platze statt, durch die stagnierenden Gewässer der Gärten. Deswegen hatten die Maßnahmen gegen die Culiciden in gewissen Ortschaften so wenig Erfolg. Um günstige Resultate zu erzielen, muß vor allem die dumme Angst verschwinden, Fremde würden durch die Maß-

1) Galli-Valerio, B., Les moustiques au point de vue de l'hygiène urbaine. (La Technique sanitaire. Oct., Nov. 1908.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

regeln gegen Mücken verscheucht. Fremde empfinden Mückenstiche schmerzlich genug, um zu wissen, daß Mücken da sind. Man muß im Gegenteil bedenken, daß heutigen Tages die Fremden durch Mückenbekämpfungsmaßnahmen in einer Ortschaft viel eher angelockt als verscheucht werden. Wir haben den Beweis dieser Behauptung in den vielen Klagen derjenigen, die in eine solche Mückenortschaft zur Sommerfrische gehen, wo nichts dagegen getan wurde, und welche schwören, nie mehr dorthin zu gehen. Der französische Touring-Club hatte sogar gedroht, alle Ortschaften zu boykottieren, wo keine Maßregeln gegen die Mückenplage getroffen wurden.

Lausanne, 31. Okt. 1910.

Nachdruck verboten.

Parasitologische Studien aus Kamerun.

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin (Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky).]

I. Ueber Gastrodiscus aegyptiacus und Spiroptera megastoma.

Von Stabsarzt Dr. **Berké.**

Im Juni v. J. ließ ich in Bare am Manenguba, im Grasland 900 m ü. M., einen ca. 7-jährigen braunen Hengst töten, weil er völlig niedergebrochen war.

Das bis zum Skelett abgemagerte Pferd war April 1909, anscheinend gesund, nach Bare gekommen, erwies sich aber weniger leistungsfähig als andere von gleichen Körperformen. Seit November 1909 war es nicht mehr geritten worden, weil seine einige Zeit vorher bemerkbar gewordene Körperschwäche zugenommen hatte. Wiederholte Blutuntersuchungen Ende 1909 und im vorigen Jahr, die sich besonders auf den Nachweis von Trypanosomen und Piroplasmen erstreckten, hatten kein Ergebnis. Fieber haben die wiederholten Temperaturmessungen nicht nachgewiesen; Anschwellungen einzelner Körperpartieen sind nie beobachtet worden; Kot und Urin erschienen normal, Würmer wurden nie bemerkt. Die sichtbaren Krankheitssymptome äußerten sich nur in der zunehmenden Körperschwäche und Abmagerung, trotz der bis zuletzt vorhandenen Freßlust.

Bei der Sektion fanden sich im Magen und den Gedärmen, besonders im Dickdarm, große Mengen von Saugwürmern, die dicht aneinander gedrängt, zum Teil in faustgroßen Klumpen, an den Darmwänden festgesaugt hingen. Daneben sah man noch zahlreiche Fadenwürmer an den inneren Schleimhäuten der Verdauungsorgane hängen, teils sich im Magen- und Darminhalt frei bewegen, von denen einige mit Blut vollgesogen waren. Die Schleimhäute, besonders die des Dickdarmes, sahen blaß aus. An der Oberfläche und im Innern der normal großen Leber waren viele stecknadelkopf- bis sagokorngroße weißliche und gelbliche Bläschen vorhanden, deren Inhalt teils flüssig, teils steinhart war; die an der Ober-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fläche der Leber gelegenen ragten über diese hervor und gaben ihr ein körniges, gesprenkeltes Aussehen. Der Herzbeutel war reichlich mit leicht trüber, gelblicher Flüssigkeit gefüllt; an den Herzvorhöfen fanden sich begrenzte ödematöse Partieen; ausgesprochene Entzündungserscheinungen waren jedoch nicht zu bemerken, ebensowenig solche von Sklerose, auch keine auffallenden Klappenveränderungen, so daß nennenswerte Funktionsstörungen des Herzens nicht bestanden haben können. Das Muskelfleisch sah blaß, fettarm, an manchen Stellen leicht gelblich aus; das Fettpolster war nahezu völlig verschwunden. Die übrigen Organe erschienen normal; im Urin ließ sich Eiweiß nicht nachweisen.

Die mikroskopische Untersuchung von peripherem Blut und dem aus inneren Organen (Milz, Leber, Herz) fiel auch diesmal ebenso negativ aus wie früher; die mikroskopische Untersuchung der Bläschen in der Leber ergab wider Erwarten keinen bestimmten Befund. Zu erkennen waren nur Zerfallspartikelchen, Eiterzellen, Leukocyten. Die steinharten, weißen, kugeligen Körper von der Größe eines Sagokornes sind jedenfalls bereits verkalkte Bläschen.

Der gesamte Krankheitsverlauf und der Sektionsbefund bei diesem Pferde hatten eine ausgesprochene Aehnlichkeit mit dem von mir 1902 und später in Bamenda im Grasland 1400 m ü. M. bei Pferden und Zeburindern beobachteten. Sämtliche Tiere gingen damals im Verlauf mehrerer Wochen bis Monate ein, wenn sie nicht rechtzeitig getötet wurden.

Ich habe darüber seinerzeit an das K. Gouvernement von Kamerun berichtet.

Jene Tiere magerten ebenfalls, ohne weitere erhebliche Krankheitssymptome zu äußern, allmählich bis zur Erschöpfung ab, trotz ihrer bis zuletzt dauernden Freßlust.

Bei den Sektionen fanden sich an den auffällig blassen Schleimhäuten der Verdauungsorgane hängend große Klumpen löffelförmiger Saugwürmer vor von gleicher Größe und Gestalt wie die jetzt in Bare gefundenen. Dagegen fielen mir damals keine Fadenwürmer auf. Möglicherweise habe ich diese in jener Zeit übersehen; die Lebern waren von einer großen Anzahl stecknadelkopfgroßer Bläschen durchsetzt, deren meist flüssiger Inhalt zum Teil auch schon verkalkt war. Soweit sie an der Oberfläche der Leber lagen, überragten sie diese und gaben ihr ein weißgesprenkeltes, körniges Aussehen.

Die im vorigen Jahre in Bare vorgefundenen Saugwürmer (Trematoden) hielt ich für Gastrodiscus aegyptiacus, welche Ansicht durch Herrn Prof. Dr. Collin vom hiesigen Zoologischen Institut bestätigt worden ist. Durch Genannten erfuhr ich auch, daß aus Bamenda stammende Saugwürmer, welche Prof. Ziemann vor 1905 an das gleiche Institut gesandt hat, hier als Gastrodiscus aegyptiacus bestimmt wurden, weshalb für mich kein Zweifel darüber bestehen kann, daß die 1902 und später in Bamenda von mir gefundenen gleichfalls Gastrodiscus aegyptiacus waren.

Diese Art von Saugwürmern ist noch in den verschiedensten Teilen unserer tropischen Kolonieen angetroffen worden; so in Ostafrika, Kawende, von P. Reichard bei Equus Boehm 1890, in Daressalam von Dr. Stierling bei Maultieren, in Togo, Sansanemangu, von G. Thierry in Magen und Darm eines Pamapferdes 1902, ebenfalls in Togo, Misahöhe, von E. Baumann. Aus Kamerun hat Prof. Ziemann um 1905 aus Bamenda stammenden Gastrodiscus aegyp-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tiacus dem Zoologischen Institut in Berlin gesandt und 1906 Oberstabsarzt Dr. Waldow.

Dieser Gastrodiscus aegyptiacus gehört zum Genus Amphistoma, für welches Fischoeder neuerdings den Namen Paramphistomum vorgeschlagen hat (Zoolog. Jahrbücher. 1903). Sein rötlicher, fleischiger Körper besteht aus einer ovalen, 12—15 mm langen, 8—12 mm breiten und bis 3 mm dicken Scheibe, an deren einem Pol ein bis 3 mm langer, rüsselförmiger Kopf mit einem Saugnapf angesetzt ist. Die große Afteröffnung liegt am entgegengesetzten Ende der Scheibe, nahe deren Rand.

Prof. Collin schreibt über den Gastrodiscus aegyptiacus im Sitzungsber. d. Gesellsch. naturforsch. Freunde zu Berlin vom 26. Mai 1891:

„Der G. sonsinoi Cobbold (= G. polymastos Leuck. = G. aegyptiacus), ein Saugwurm, wurde 1876 in Aegypten von Sonsino entdeckt bei Gelegenheit einer Pferdesterbe; unter einer größeren Zahl von gefallenen und untersuchten Pferden fand ihn Sonsino nur in 2 Fällen: das eine Mal in 6 Exemplaren im Dünndarm, das andere Mal über 100 im Dickdarm. Girard erwähnt sein Auftreten in Guadeloupe bei einer Pferdeseuche. Hier war der ganze Darmtraktus einiger Maultiere vom Pharynx bis zum Anus von Tausenden dieser Würmer besetzt.

Der Bau des Gastrodiscus ist ein sehr merkwürdiger. Der Körper besteht aus einem kleineren abgesetzten Kopfzapfen und einem größeren ovalen Hauptteil mit konvexer Rücken- und stark konkaver Bauchfläche, deren Höhlung durch den ringsum eingeschlagenen Körperrand gebildet wird; die Bauchfläche bietet so das Aussehen eines riesigen Saugnapfes dar. Der Mund mit einem kleinen Saugnapf liegt an der Spitze des Kopfzapfens, ein zweiter größerer Saugnapf befindet sich hinten am Ende der Bauchfläche. Die löffelförmige Ventralseite trägt gegen 200 akzessorische Saugnäpfchen; die Gesamtlänge beträgt bis 16 mm. In konserviertem Zustand zeigt sich der Leib meist ausgehöhlt, allein der Wurm hat die Fähigkeit, seinen Körper zu einer flachen Scheibe auszubreiten."

Nach Prof. Collin ist der Gastrodiscus aegyptiacus ziemlich sicher ein Krankheitserreger, der den Tod seines Wirtes herbeiführen kann.

A. Railliet meint, daß der Gastrodiscus aegyptiacus in den meisten Fällen die Gesundheit seines Wirtes nicht zu beeinträchtigen scheint, daß aber in Guadeloupe eine tödliche Epidemie unter den Maultieren auf die außerordentlich zahlreichen Gastrodiscus-Exemplare, die man in den Maultieren gefunden habe, zurückzuführen sei.

In den Medizinalberichten aus den deutschen Schutzgebieten 1905/06 schreibt Prof. Ziemann über Trematodenerkrankungen in Kamerun:

1) Bei Rindern durch Paramphistom. cotylophor. — sc. das P. cotyl. und Gastr. aeg. gehören beide zum Genus Amphistoma (Zoolog. Jahrbücher. 1903) — welche aus dem Bakossigebiet im August 1905 eingeschleppt wurden, und denen eine sehr erhebliche Zahl des Kreuzungsviehes zum Opfer fiel. Die Tiere gingen unter zunehmender Abmagerung zugrunde. Die Dauer der Krankheit betrug oft mehrere Monate.

2) Bei Pferden durch Fasciola agosta in Bamenda. Speziell im Bamendabezirk sollen mehrere Pferde, deren Darmkanal fast voll-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gestopft gewesen sein soll mit diesen Parasiten, unter Erschöpfung und Anämie zugrunde gegangen sein.

In den Medizinalberichten aus den deutschen Schutzgebieten von 1907/08 spricht sich Regierungstierarzt Dr. Springefeld über Eingeweidewürmer dahin aus:

„Die Frage ihrer schädigenden Wirkung ist mit Vorsicht zu beurteilen. Distomum cotylophorum ist im Schutzgebiet weit verbreitet; es findet sich bei Antilopen, Büffeln, Algäuern, ohne daß ihre Gesundheit im geringsten gestört ist. Bedeutsamer scheint bei Pferden Fasciola agosta."

Der Name Fasciola agosta scheint mir identisch zu sein mit Fasciola hepatica angusta, welche nach A. Looss wieder identisch ist mit Fasciola hepatica aegyptiaca und der Fasciola hepatica gigantea Cobbold, welche er in Ziegen, Schafen, Rindern gefunden hat, und welche unter sich nur in der Größe differieren, die von 5—68 mm schwankt, anderweitige Unterscheidungsmerkmale aber nicht aufweisen.

Die in dem in Bare getöteten Pferde noch aufgefundenen Fadenwürmer, welche in Gestalt und Größe dem bekannteren Ankylostomum duodenale ähneln, hat Herr Prof. Dr. Collin als Spiroptera megastoma Rud. bestimmt. Es sind dünnfadige Würmer von ungefähr 1 cm Länge; einige von ihnen waren bei ihrer Auffindung mit Blut gefüllt, tragen also jedenfalls zu der bemerkten Anämie der Verdauungsorgane bei.

„Nach Hutyra und Marek gehören sie zu den Nematoden und finden sich im Magen von Pferden. In der Nähe des linken Randes der drüsenförmigen Schleimhaut bildet diese Spiroptera bis hühnereigroße, feste Tumoren — sc. ich habe solche nicht bemerkt — aus deren Oeffnungen die Würmer herausgepreßt werden können. Sowohl dieser Wurm wie die Spiroptera microstoma, die nach Railliet bei Pferden auf der Magenschleimhaut vorkommt und nach diesem zu Ulcerationen des Magens führen kann, haben vom klinischen Standpunkt aus keine Bedeutung."

Weston dagegen beobachtete mehrere Fälle von Geschwürsbildung im Pylorusabschnitt des Magens und im Dünndarm mit konsekutiver Bauchfellentzündung und tödlichem Ausgang bei der Anwesenheit von Spiroptera megastoma (Jahresber. f. Veterinärmed. 1908).

In den Jahresber. f. Veterinärmed. von 1909 berichtet Martin über die Ergebnisse seiner Versuche über die Fortschaffung von Spiroptera megastoma aus dem Organismus. Er fand, daß die Würmer gegen die gebräuchlichen Wurmmittel sehr resistent sind, jedenfalls bedeutend resistenter als andere Parasiten des Verdauungstraktus; selbst hohe Dosen Lysol, die über die medizinischen Dosen hinausgingen, bewirkten keine Abtötung der Würmer, sondern lediglich ein Austreiben derselben.

In den gleichen Jahresberichten erwähnt Diehm, daß bei 4 Pferden, bei welchen das Vorhandensein von Spiroptera megastoma festgestellt war, der Ernährungszustand trotz Futteraufnahme schlecht und mit Mattigkeit verbunden war. Auf Schwefelkohlenstoff- und Aloëbehandlung gingen eine Menge Spiropteren ab. Die Pferde erholten sich nur langsam.

Aus den hier zitierten Abhandlungen ergibt sich somit, daß die Ansichten der Autoren über die krankheitserregenden Eigenschaften des Gastrodiscus und der Spiroptera noch geteilte sind.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die völlig gleichen Krankheitssymptome bei jenen Tieren in Bamenda 1902/03 und dem Pferd in Bare im vorigen Jahre, der gleiche Sektionsbefund an denselben inneren Organen, der gleiche Mangel an anderen Krankheitsäußerungen, bezw. pathologischen Veränderungen besonders des Blutes, während dagegen die erwähnten Darmschmarotzer in solchen Mengen gefunden wurden, bestimmen mich, in diesen die Krankheits-, bezw. Todesursache zu erblicken und dem Gastrodiscus die Hauptschuld zuzuschreiben; denn schon rein mechanisch muß er durch die Verminderung der resorbierenden Schleimhautflächen infolge seines massenhaften Auftretens schwerere Verdauungsstörungen hervorrufen; zudem entzieht er natürlich den Darmschleimhäuten zu seiner eigenen Ernährung jedenfalls große Säftemengen, wozu noch die Möglichkeit vorliegt, daß seine Stoffwechselprodukte krankmachend wirken.

Allerdings sind für die endgültige lückenlose Beweisführung meiner Ansicht noch weitere Beobachtungen und Sektionsbefunde nötig, auch zur Feststellung des Anteils, welcher den Fadenwürmern, der Spiroptera megastoma, im Verlaufe des Krankheitsprozesses zuzuschreiben ist, oder ob erst das gemeinschaftliche Auftreten und Wirken des Gastrodiscus mitsamt der Spiroptera die schweren Krankheitssymptome hervorzurufen vermögen; speziell sind noch Untersuchungen nötig, welcher Art und welchen Ursprungs die Erkrankungsherde in der Leber sind, bezw. ob ihre Entstehung auf den Gastrodiscus oder die Spiroptera zurückzuführen ist. Als sicher ist eine Störung auch der Leberfunktion dann anzunehmen, wenn die Herde, sei es als Bläschen, sei es schon im Zustande der Verkalkung, in solcher Menge auftreten, wie ich sie 1902 bei Sektionen in einzelnen Fällen gesehen habe.

Mag nun die Bedeutung des Gastrodiscus einerseits und der Spiroptera andererseits durch die von mir beobachteten Fälle noch nicht einwandfrei geklärt erscheinen, so beweisen doch die Befunde, daß man die genannten Darmschmarotzer nicht mehr unter die harmlosen zählen kann, ihnen vielmehr vom klinischen Standpunkt aus Bedeutung zumessen muß. Daraus ergibt sich für die praktische Viehhaltung die Notwendigkeit, vorbeugend gegen die Verbreitung jener Würmer zu wirken und bei den durch sie hervorgerufenen, aus den Symptomen oder aus dem Abgang einzelner Würmer erkennbaren Krankheitsfällen, zumal wo es sich um wertvollere Tiere handelt, die Möglichkeit, mittels medikamentöser Darreichungen zu helfen.

Literatur.

Bronn, Klassen und Ordnungen des Tierreiches. Bd. 4. Leipzig 1879—1893. Tafel XXVI. Apisthotrema cochleare. — Tafel XXI. Gastrodiscus polymastos Leuck. — p. 875. Amphistoma.

Braun, M., Die tierischen Parasiten des Menschen. Würzburg 1908. p 181.

Looss, A., Beiträge zur Kenntnis der Trematodenfauna Aegyptens. (Zoolog. Jahrb. Bd. 12. 1899. p. 556; Bd. 16. 1902. p. 782, 783.)

Railliet, A., Traité de zoologie médicale et agricole. Paris 1895. Gastrodiscus aegyptiacus. p. 380.

Hutyra und Marek, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. Jena 1910. p. 493. Gastrodiscus aegyptiacus. — p. 474. Nematoden im Pferdemagen. Spiroptera megastoma.

Dieckerhoff, W., Die Krankheiten des Pferdes. Berlin 1904. p. 591. Rundwürmer. Spiroptera megastoma.

Jahresber. f. Veterinär-Med. 1908. Weston p. 123.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Jahresber. f. Veterinär-Med. 1909. Martin. p. 143 und ebenda Diem. p. 143. Therapie.
Zoolog. Jahrb. 1903. p. 485 ff. Fischoeder, Paramphistomiden der Säugetiere.
Jahresber. f. Veterinär-Med. (Ellenberger-Schütz). Jahrg. 1908. p. 138. Springefeldt über Distomum cotylophor. bezw. Fasciola agosta.
Medizinalber. a. d. Schutzgeb. 1905/06. p. 192. Ziemann.
Dieselben, 1907/08. p. 220. Springefeldt.
Friedberger und Fröhner, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. Stuttgart 1900. Bd. 1. p. 319.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Wirkungsweise des Antityphusserums.

[Aus dem II. pathologisch-anatomischen Institut in Budapest (Direktor: Prof. Dr. O. Pertik).]

Von **St. Rusznyák.**

I.

Weil und Braun referieren in einem Artikel (Folia Serolog. 1909. Heft 3) über die Untersuchungen, die sie mit dem Hühnercholeraantiserum angestellt haben. Es zeigte sich, daß die beträchtlichen bakteriziden und bakteriotropen Eigenschaften, die das Serum in vitro aufweisen kann, keine Rolle bei dessen Schutzwirkung spielen, indem nach Entfernung derselben durch Absorption das Serum seine spezifische Schutzwirkung unvermindert beibehält. Die Autoren glauben, daß es sich dabei um eine Antiaggressinwirkung handelt, da das Serum bei gleichzeitiger Komplementbindung unwirksam wird. Auf dieser Grundlage geben sie in einer späteren Arbeit (Folia Serolog. 1909. Heft 7) folgende Einteilung der verschiedenen Immunsera: In die eine Gruppe gehören diejenigen Sera, welche durch ihre präzipitierenden, agglutinierenden, lytischen oder bakteriotropen Eigenschaften ihre spezifische Wirkung ausüben. Diese Bestandteile können nämlich durch die entsprechenden Bakterien in vitro absorbiert werden. In die andere Gruppe gehören die antitoxisch oder antiaggressiv wirkenden Sera. Wenn also ein Immunserum nach Erschöpfung mit den entsprechenden Bakterien unwirksam wird, gehört es in die erste Kategorie, wenn seine Wirksamkeit unverändert bleibt, in die zweite. Zwischen antitoxischer und antiaggressiver Wirkung liegt der Unterschied darin, daß zur letzteren auch das Komplement nötig ist.

Ohne uns mit der theoretischen Grundlage ihrer Annahmen zu identifizieren, schien die Methode sehr geeignet, um mit deren Hilfe auch bei anderen Seren die Rolle der spezifischen Bestandteile bei der Schutzwirkung zu prüfen. Unsere Untersuchungen beziehen sich auf das Antityphusserum bzw. auf dessen Verhalten bei dem Pfeifferschen Versuch. Sie zerfallen in zwei Reihen: Die erste Reihe behandelt die Wirkungsweise des Serums nach der Weil- und Braunschen Methode, die zweite Reihe untersucht das Verhalten der Typhusbacillen und des tierischen Organismus während der ganzen Erscheinung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II.

Zur Gewinnung von Immunserum injizierten wir intravenös oder intraperitoneal Kaninchen eine Aufschwemmung von abgetöteten Typhusbacillen. Nach 10—14 Tagen ließen wir die Tiere aus der Vena jugularis in ein steriles Gefäß verbluten. Die Absorption der Lysine, Agglutinine und Bakteriotropine geschah in der folgenden Weise: Die Bacillen von 8—20 Agarkulturen wurden in 5—6 ccm steriler, physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, durch einstündiges Erhitzen auf 60° C abgetötet, zentrifugiert und die reine Flüssigkeit abgegossen. Dem Bodensatze wurden 3 ccm Immunserum zugefügt mit einer Oese gut aufgerührt und dann 3 Stunden lang bei 37° C warm gehalten. Dann kam das Serum mit den Bacillen 12 Stunden in den Eisschrank und zuletzt in die Zentrifuge. Jetzt war anzunehmen, daß sämtliche Bestandteile des Serums, die durch Bacillenkörper gebunden werden können, absorbiert waren. Natürlich wurden jedesmal die Agglutinations- und bakteriziden Titer, sowie der opsonische Index parallel bei dem originalen und bei dem erschöpften Immunserum bestimmt. Die Untersuchungen bestanden darin, daß wir das typische Pfeiffersche Phänomen mit Normalkaninchenserum, mit Antityphusserum und mit vorbehandeltem Antityphusserum wiederholten. Der positive oder negative Ausfall der Reaktion wurde sowohl in hängenden Tropfen, wie in Strichpräparaten bestimmt.

Nachfolgend das Protokoll einer solchen Versuchsserie:

	Agglutinationstiter	Bakterizide Titer	Opsonischer Index
Immunserum vor der Absorption	1:80	1:1200	3,27
Immunserum nach der Absorption	0	1:80 (schwach)	1,02

Meerschweinchen 1. 182 g.

Intraperitoneal 1 ccm 24-stündiger Typhusbouillonkultur, 1 ccm sterile Bouillon. Nach 25 Minuten kann man in einem Tropfen der peritonealen Flüssigkeit sehr viele, gut bewegliche Bacillen sehen, deren Zahl sich nach 1 Stunde außerordentlich vermehrt.

Meerschweinchen 2. 195 g.

Intraperitoneal 1 ccm Bouillonkultur, 0,4 ccm Normalserum, 0,6 ccm sterile Bouillon. Nach 25 Minuten sind in der Bauchhöhle mehrere bewegliche und viele unbewegliche Bacillen zu sehen. Nach 1 Stunde ist die Bauchhöhle voll mit lebhaft sich bewegenden Bacillen.

Meerschweinchen 3. 145 g.

Intraperitoneal 1 ccm Bouillonkultur, 0,4 ccm Immunserum, 0,6 ccm sterile Bouillon. Nach 25 Minuten 1—2 bewegliche Bacillen und einige Granula. Nach 1 Stunde sind die Bacillen verschwunden.

Meerschweinchen 4. 155 g.

Intraperitoneal 1 ccm Bouillonkultur, 0,45 ccm vorbehandeltes Immunserum, 0,55 ccm sterile Bouillon. Nach 25 Minuten sind in einem Tropfen der peritonealen Flüssigkeit einige bewegliche Bacillen und einige Granula (!) zu sehen. Nach 1 Stunde 1—2 unbewegliche Bacillen.

Meerschweinchen 5. 197 g.

Intraperitoneal 1 ccm Bouillonkultur, 0,45 ccm vorbehandeltes Immunserum, 0,55 ccm sterile Bouillon, 0,1 ccm Normalmenschenserum, 0,1 ccm Antimenschenserum. Nach 25 Minuten sind in der Bauchhöhle einige bewegliche Bacillen anwesend. Nach 1 Stunde 2—3 unbewegliche Bacillen.

Es ist noch folgendes zu bemerken: Die 1—1 ccm Bouillonkulturen sind natürlich aus ein und derselben 24-stündigen Kultur genommen.

Aus dem erschöpften Immunserum wurde ein wenig mehr (0,45 ccm) genommen, da es bei der Behandlung verdünnt wird.

Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Wie aus dem Protokoll zu sehen ist, waren hie und da nach einer Stunde einige Bacillen in der peritonealen Flüssigkeit noch anwesend; das ändert aber an der Positivität der Resultate gar nichts; in der mitgeteilten Versuchsserie wurden die Tiere 1 Stunde nach der Injektion abgetötet; blieben sie am Leben, verschwanden nach $1^1/_2$—2 Stunden auch diese 1—2, übrigens ganz unbeweglichen Bacillen.

Die folgende Tabelle faßt die Resultate zusammen:

Tiere	Kultur	Bouillon	Normalserum	Immunserum Original	Immunserum behandelt	Normalmenschenserum	Antimenschenserum	Pfeiffer-Reaktion
1	1 ccm	1 ccm						—
2	1 „	0,6 „	0,4 ccm					—
3	1 „	0,6 „		0,4 ccm				+
4	1 „	0,55 „			0,45 ccm			+
5	1 „	0,55 „			0,45 „	0,1 ccm	0,1 ccm	+

Wir können daraus sehen, daß das Antityphusserum auch dann noch seine schützende Wirkung ausübt, wenn aus demselben die Lysine und Tropine durch Absorption entfernt sind, und selbst dann, wenn wir gleichzeitig auch das zur Verfügung stehende Komplement binden. Es ist wahr, daß durch sämtliche dieser Prozeduren die Reaktion etwas verlangsamt wird, aber nur in einer so verschwindend geringen Weise, daß man auch daraus schließen kann, daß die ausfallenden Faktoren keine entscheidende Rolle spielen konnten.

Nach der Einteilung von Weil und Braun müßten wir also das Antityphusserum unter die antitoxischen Sera rechnen. Aus den Versuchen von Pfeiffer und Wassermann wissen wir aber, daß das Antityphusserum keine antitoxische Eigenschaften besitzt. Gegen ein bestimmtes Quantum Bacillen schützt keine Menge des Serums mehr. Außerdem würde die antitoxische Eigenschaft des Serums das Verschwinden der Bacillen aus der peritonealen Flüssigkeit nicht erklären. Wir müssen also zuerst das Verhalten der Bacillen bei der Pfeifferschen Reaktion prüfen; daß dabei auch Bakterienzerfall mitspielt, wissen wir aus dem Vorhandensein der Granula, die in jedem Falle nachweisbar waren: Natürlich kann dieser Zerfall auch intracellulär sein, indem die Bacillen in den Phagocyten zerfallen, diese durch frei werdende Endotoxine töten und so die Granula in die peritoneale Flüssigkeit gelangen können.

III.

Wir wollen zuerst die Möglichkeiten prüfen, die sich bei der Untersuchung des Verhaltens der Bakterien ergeben können. Es wäre der Fall möglich, daß wir die Bacillen nach der Reaktion im Tierkörper nicht mehr auffinden können, was zur Annahme einer extracellulären Lyse führen müßte, wozu Lysine nötig wären, die sich in vitro nicht an die Bacillen binden und von den Bakterizidinen also völlig verschieden sind.

Im anderen Fall würden wir die Bacillen finden entweder an der Oberfläche des Peritoneums, vielleicht nur hingeklebt, oder in Phagocyten; oder aber sind sie schon in die peritonealen Gewebe gedrungen, vielleicht in die Endothelzellen, oder schließlich sind sie schon an entferntere Orte des tierischen Körpers verschleppt worden.

Zur Erforschung dieser Verhältnisse bedienten wir uns des folgenden Verfahrens:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir wiederholten mehrfach die Pfeiffersche Reaktion, wie früher, ohne Serum, mit Normalserum, Immunserum etc., dann ließen wir die Tiere 25 resp. 60 Minuten nach der Injektion verbluten und untersuchten die peritoneale Oberfläche und die peritonealen Gewebe.

Zur Untersuchung der Oberfläche nahmen wir von verschiedenen Stellen des Peritoneums (Omentum, Darmserosa, Peritoneum parietale) Strichpräparate, fixierten diese in Aetheralkohol und färbten sie mit Karbolmethylenblau an. Dann schnitten wir Peritoneumstücke heraus, besonders vom Omentum und Mesenterium, und wuschen sie, um sie von an der Oberfläche haftenden Bacillen und Leukocyten zu befreien, in steriler, physiologischer Kochsalzlösung. Auch diese Stücke wurden in Aetheralkohol fixiert und nach Färbung mit Loefflers Methylenblau untersucht. Bei Tieren, denen reine Kulter injiziert worden war, fanden wir die peritoneale Oberfläche mit massenhaft vermehrten Bacillen und einigen Leukocyten bedeckt. Interessant waren die Ergebnisse bei Meerschweinchen, die mit den Kulturen zugleich eine genügende Quantität Immunserum oder erschöpftes Immunserum bekamen, und in deren peritonealen Flüssigkeit schon nach 30—40 Minuten kein einziger Bacillus mehr zu sehen war, d. h. wo nach der Auffassung der Pfeifferschen Schule schon sämtliche Bacillen aufgelöst wären; bei solchen Tieren fanden wir auf der peritonealen Oberfläche relativ sehr viele Bacillen in Phagocyten und sogar in Endothelzellen eingeschlossen. Natürlich ist es unmöglich, zu bestimmen, ob man in solcher Weise sämtliche injizierte Bakterien finden kann, aber wir müssen annehmen, daß sich unter solchen Verhältnissen in der Peritonealhöhle die Bacillen nicht weiter vermehren; es ist außerdem zu bedenken, daß die peritoneale Oberfläche sehr groß ist, daß auf eine kleine Fläche relativ nicht viel Bakterien kommen können, und zuletzt erscheint es sicher, daß zur Zeit der Untersuchung schon sehr viele Bakterien in den Phagocyten zugrunde gegangen sind. Unter Berücksichtigung dieser Umstände können wir, ohne zu wissen, daß das Serum auch nach Extraktion der Lysine denselben Effekt hervorbringt, ausschließlich aus dem mikroskopischen Bild schließen, daß die mit dem Serum eingeführten Lysine keine große Rolle bei dem Verschwinden der Bacillen aus der Peritonealflüssigkeit spielen.

In dieser Ansicht werden wir noch bestärkt durch die Betrachtung der peritonealen Gewebe. Auch hier finden wir phagocytierende Leukocyten und Endothelzellen; es ist interessant, zu beobachten, wie diese letzteren nicht überall, sondern gruppenweise phagocytieren. Die normalen Endothelzellen sind ziemlich gleichgroß, und auch ihre Kerne sind ungefähr in der gleichen Distanz voneinander entfernt. Bei der Phagocytose nimmt ihr Protoplasma zu, es wird besser färbbar, die Zellen rücken einander näher und bilden mit Leukocyten zusammen kleinere und größere phagocytierende Häufchen.

Ueberhaupt ist es augenscheinlich, daß in dem Peritoneum große Umwandlungen stattfinden. Leukocyten wandern aus den Kapillaren heraus, die Endothelzellen phagocytieren, und, wie es scheint, werden sie auch beweglicher, denn sie hatten viel weniger an der Unterlage und kleben leichter an dem sie berührenden Deckgläschen an, als gewöhnlich. Die Mastzellen nehmen an Zahl zu. Fahr behauptet zwar, daß nach Injektion von Bacillen in die Bauchhöhle die Mastzellen durch negative Chemotaxis aus der peritonealen Flüssigkeit in das Mesenterium und Omentum hineinwandern (Virchows Arch. Bd. 179. Heft 3). Wir fanden jedoch das Gegenteil; wenn wir nur Bakterien injizierten, fanden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich im Omentum und Mesenterium viel weniger Mastzellen, wenn wir hingegen auch gleichzeitig Immunserum injizierten, waren sie entschieden vermehrt.

Alles zusammen genommen, können wir behaupten, daß sowohl bei der Anwendung des gewöhnlichen Immunserums, wie auch nach Absorption der Lysine, die Bacillen in der Bauchhöhle nicht aufgelöst werden, sondern, wenigstens in ihrer Mehrzahl, in den peritonealen Endothelzellen und in den Leukocyten aufzufinden sind.

IV.

Es ist nun zu entscheiden, welche Art der Serumwirkung es ist, die diese Effekte hervorbringt. Wir sahen früher, daß es eine antitoxische Wirkung nicht sein kann. Eine antiaggressive, im Sinne Weil und Brauns, ist auch ausgeschlossen, denn die Komplementbindung ändert an den Verhältnissen gar nichts. Es ist möglich, daß es sich dabei um einen bisher unberücksichtigten Immunkörper handelt, der sich nicht an die Bacillen bindet und die Leukocyten und Endothelzellen zur Phagocytose anregt. Es ist auch nicht ausgeschlossen, daß in vitro die Bacillen einen Immunkörper gewissermaßen inaktivieren, welcher dann in der Bauchhöhle wieder aktiv wird. Es ist auch die dritte Möglichkeit vorhanden, daß es eine Art von leukotaktischem Immunkörper ist, wie es Weil gegen Milzbrand annimmt. Alle diese Erklärungen können auch den Pfeiffer-Wassermannschen Versuch leicht erklären, da sie eine antiendotoxische Wirkung des Serums nicht annehmen, und so, die Bacillen intracellulär zerfallend, die Tiere durch eine Endotoxinwirkung töten könnten. Wir wollen aber hier keine Entscheidung zwischen den vielen Möglichkeiten treffen, da dazu noch ausgedehntere Versuche und auch Vergleichungen mit anderen Immunseren notwendig wären, und begnügen uns deshalb mit der Zusammenfassung unserer Resultate:

1) Das Antityphusserum behält seine schützende Eigenschaft auch in dem Falle, wenn aus demselben die Agglutinine, Lysine und Tropine durch Absorption entfernt worden sind. Es behält seine Wirkung auch, wenn das Komplement gebunden ist.

2) Das mikroskopische Bild der peritonealen Flüssigkeit ist in allen diesen Fällen dasselbe. Die Bakterien verschwinden daraus und an ihrer Stelle sind nur einige Granula vorhanden.

3) Der größte Teil der Bacillen ist an der peritonealen Oberfläche, besonders am Omentum, in den Leukocyten und in den Endothelzellen aufzufinden.

4) Das Peritoneum nimmt aktiven Anteil an der Verteidigungsarbeit.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die tuberkulösen Exsudate beim Menschen in ihren Beziehungen zur Immunität[1]).

[Aus der Medizinischen Klinik der Kgl. Universität Genua (Vorsteher: Prof. E. Maragliano).]

Von Prof. Dr. **Spiro Livierato** und Dr. **Ernesto Crossonini.**

Ueber die Giftkraft der Exsudate sowohl im allgemeinen als auch bezüglich ihrer Unterschiede von den Transsudaten wurden zahlreiche Untersuchungen ausgeführt. So haben zur Kenntnis dieses toxischen Vermögens besonders der tuberkulösen Exsudate im wesentlichen beigetragen die Arbeiten von Chauffard und Gombault, welche die tuberkulöse Virulenz gewisser Pleura- und Peritonealergüsse untersuchten, diejenigen von Débove und Rénault, welche in den tuberkulösen Exsudaten tuberkulinähnliche Stoffe nachweisen konnten, von Kelsch, Eichhorst, Péron, Le Demany, Rummo, Maragliano, Castellino, Badano, Bezançon und Griffon, Giard-Mangin, Marcon u. a. Es wurden hingegen bis jetzt sehr spärliche Untersuchungen über die tuberkulösen Exsudate in bezug auf die Immunität im allgemeinen und speziell in bezug auf das eventuelle Schutzvermögen der tuberkulösen Exsudate beim Menschen gegen die Tuberkelinfektion ausgeführt.

Die wichtigsten Forschungen auf diesem besonderen Gebiete beginnen mit der von Gilbert 1894 erdachten Methode der sogenannten Autoserotherapie bei tuberkulösen Bauchfellentzündungen.

Von der von Débove und Rénault nachgewiesenen Tatsache ausgehend, daß die tuberkulösen Exsudate Produkte enthalten, welche wenn nicht mit dem Kochschen Tuberkulin identisch, doch wenigstens demselben ähnlich sind, hat bekanntlich Gilbert einigen Pleuritiskranken ihr eigenes Exsudat unter die Haut injiziert und beobachtet, daß danach die Flüssigkeit der Pleurahöhle rasch absorbiert wurde. Die bedeutendsten und deutlichsten Resultate erhielt er bei tuberkulösen Pleuritiden, während er bei den rein rheumatischen Bauchfellentzündungen keine besonderen Vorteile erzielen konnte. Aus diesen Beobachtungen schließt er, daß das tuberkulöse Pleuraexsudat als ein abgeschwächtes Tuberkulin betrachtet werden kann, welches durch einen noch unbekannten Mechanismus bei tuberkulösen Pleuritiden die Resorption des Ergusses befördert.

An die Beobachtungen von Gilbert schlossen sich weitere anderer Autoren mit ähnlichen Resultaten an; so berichtet Bourget über ähnliche Fälle, Maillart und Andreae über 2 usw., kurz im ganzen 21 Fälle mit günstiger allgemeiner Wirkung, wobei in 17 Fällen eine vollständige Heilung eintrat.

Weitere Beobachtungen mit günstigen Resultaten wurden noch mitgeteilt von Bonardi, Scarpa, Tschigaeft, Donzello, Fede, Jona, Signorino, während hingegen Mongour und Gentes nur bei nicht-tuberkulösen Pleuritiden günstige Resultate erzielen konnten, Rossi und Garbarini bei tuberkulösen Formen keinen Erfolg sahen und Landolfi in keinem Falle eine vollständige Resorption des Exsudates beobachtete.

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl-Turin.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:16 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wenn man von den wenigen negativen Resultaten absieht, so hat die große Mehrzahl der Beobachter mit dem Verfahren Gilberts im allgemeinen günstige Erfolge erzielt. Dieses Verfahren, zu welchem unsere im folgenden zu berichtenden Untersuchungen in vielfachen Beziehungen stehen, wirkte, in seinen allgemeinen Grundzügen betrachtet, — ich will hier nicht auf seinen Wirkungsmechanismus näher eingehen — jedenfalls durch das spezifische Exsudat und durch die in demselben enthaltenen Stoffe.

Péron schließt andererseits aus seinen Untersuchungen, daß die durch tuberkulöse Pleuritiden entstehenden Exsudate therapeutische Eigenschaften gegen die durch den Kochschen Bacillus bedingten Infektionen besitzen, und meint, das serofibrinöse Exsudat, welches sich in einer Pleura bildet, in welcher der Tuberkelbacillus sich angesiedelt hat, habe die Bedeutung eines vom Organismus der Infektion entgegengestellten Schutzmittels, und daß diese Wirkung auf Antitoxine zurückzuführen ist, welche verhindern, daß der Tuberkelbacillus sonst und in höherem Maße schädlich wirkt.

E. Maragliano ist der Ansicht, daß in den tuberkulösen Exsudaten nicht nur tuberkulinähnliche Giftstoffe vorhanden sind, sondern daß wir heutzutage nicht berechtigt sind, in diesen Exsudaten die Anwesenheit von Schutzstoffen auszuschließen, welche imstande sind, die im Organismus zirkulierenden Gifte zu neutralisieren, d. h. daß in den tuberkulösen Exsudaten Antitoxine vorhanden sind.

* * *

Die Versuche, über welche wir im folgenden berichten werden, wurden während der Periode 1908—1910 mit Exsudaten ausgeführt, welche aus tuberkulösen Pleuritiden, Peritonitiden und aus Polyserositiden (Kranke der medizinischen Klinik) stammten.

Die tuberkulöse Natur der Exsudate wurde mit Sicherheit festgestellt; die Exsudate zweifelhafter Natur wurden beiseite gelassen.

Es wurden im ganzen 20 tuberkulöse Exsudate untersucht, welche folgendermaßen verteilt sind: 14 stammten aus tuberkulösen Pleuritiden, 3 aus tuberkulösen Peritonitiden und 3 aus Polyorromenitiden. Die Exsudate wurden vermittelst einer trocken sterilisierten gläsernen Spritze unter Befolgung der Maßregeln der strengsten Asepsis entnommen und vor der Anwendung einer spontanen Sedimentbildung überlassen und durch steriles Filtrierpapier filtriert. Zu den Kontrolluntersuchungen haben wir 2 Exsudate aus Erkältungspleuritiden und 2 Transsudate angewendet, von denen das eine aus einem Ascites infolge von Lebercirrhose und das andere aus einem Hydrothorax infolge einer hyposystolischen Kardiopathie stammte.

Bei jedem tuberkulösen Exsudat wurde das antitoxische Vermögen, das Agglutinationsvermögen, das Präzipitierungsvermögen, die Anwesenheit spezifischer Sensibilatoren und der opsonische Index gegenüber dem Tuberkelbacillus untersucht.

Die ersten von uns erhaltenen Resultate haben wir in der Cronaca della R. Clinica medica di Genova. 1909. No. 18 kurz berichtet. Hier wollen wir die einzelnen Versuche und die erzielten Resultate ausführlicher beschreiben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1. Bestimmung des antitoxischen Vermögens der tuberkulösen Exsudate.

Die Bestimmung des antitoxischen Vermögens der einzelnen tuberkulösen Exsudate geschah in der Weise, daß Meerschweinchen verschiedene Mengen (10—20 ccm) von tuberkulösen Exsudaten oder von Exsudaten aus Erkältungspleuritiden oder von Transsudaten eingespritzt und zu gleicher Zeit oder 24—48 Stunden später eine tödliche Tuberkulindosis (1 ccm von wässerigem Maragliano schem Tuberkulin pro 100 g Tier) injiziert und beobachtet wurde, wie sich die Dauer des Ueberlebens nach der Tuberkulininjektion im Vergleich zu Kontrolltieren, d. h. zu Meerschweinchen verhielt, welche nur die Tuberkulin-, aber keine Exsudateinspritzung bekommen hatten.

Die zu diesen Versuchen benutzten Tiere hatten dieselbe Größe und im Durchschnitt ein Gewicht von 400—450 g.

Wir haben unsere Resultate in den Tabellen I und II zusammengestellt. In denselben haben wir die Kontrollversuche mit der alleinigen Tuberkulininjektion nicht angeführt, weil die betreffenden Tiere nichts Bemerkenswertes zeigten und alle in der klassischen Periode der akuten Tuberkulinvergiftung starben.

Tabelle I.

Antitoxisches Vermögen der Exsudate.

(Gleichzeitige Einspritzung des Exsudates und der tödlichen Tuberkulindosis.)

No.	Name der Kranken	Diagnose	Eingespritzte Menge des Exsudats	Dauer des Lebens nach der Einspritzung von Tuberkulin (tödliche Dosis)
1	M., Umberto	Pleuritis tuberculosa	10 ccm	8 Tage
2	M., Benedetto	„ „	10 „	überlebt
3	C., Battista	„ „	10 „	5 Tage
4	S., Matteo	Peritonitis tuberculosa	10 „	18 Stunden
5	O., Ersilia	„ „	10 „	überlebt
6	K., Santo	Polyorromenitis	10 „	6 Tage
7	T., Giuseppe	Peritonitis tuberculosa	10 „	3 „
8	B., Fortunato	Pleuritis tuberculosa	10 „	überlebt
9	R., Vittoria	„ „	10 „	„
10	B., Luigi	„ „	10 „	2 Tage
11	R., Giuseppe	„ „	10 „	10 Stunden
12	M., Giovanni	Polyorromenitis	10 „	8 Tage
13	G., Giovanni	Pleuritis tuberculosa	10 „	überlebt
14	R., Luigi	„ „	10 „	5 Tage
15	P., Antonio	„ „	20 „	12 Stunden
16	P., Arnaldo	Polyorromenitis	20 „	3 Tage
17	R., Giovanni	Pleuritis tuberculosa	20 „	6 Stunden
18	C., Antonio	„ „	20 „	4 Tage
19	G., Luigia	„ „	20 „	20 Stunden
20	O., Carlo	„ „	20 „	10 „
21	M., Carlo	Pleuritis durch Erkältung	10 „	18 „
22	B., Michele	„ „ „	20 „	12 „
23	D., Pietro	Ascites infolge von Lebercirrhose	10 „	12 „
24	C., Francesco	Hydrothorax infolge von Herzleiden	20 „	10 „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Antitoxisches Vermögen der Exsudate.

[1) Präventiveinspritzung von Exsudat; 2) Einspritzung der tödlichen Tuberkulindosis.]

No.	Name der Kranken	Diagnose	Eingespritzte Exsudatmenge	Zwischenraum zwischen der Exsudat- und der Tuberkulininjektion	Dauer d. Lebens nach der Einspritzung von Tuberkulin (tödliche Dosis)
1	M., Umberto	Pleuritis tuberculosa	10 ccm	48 Stunden	7 Tage
2	M., Benedetto	„ „	10 „	48 „	überlebt
3	C., Battista	„ „	10 „	48 „	„
4	S., Matteo	Peritonitis tuberculosa	10 „	48 „	2 Tage
5	O., Ersilia	„ „	10 „	48 „	überlebt
6	L., Santo	Polyorromenitis	10 „	48 „	7 Tage
7	T., Giuseppe	Peritonitis tuberculosa	10 „	24 „	7 „
8	B., Fortunato	Pleuritis tuberculosa	10 „	24 „	überlebt
9	R., Vittoria	„ „	10 „	24 „	„
10	B., Luigi	„ „	10 „	24 „	15 Stunden
11	R., Luigi	„ „	10 „	24 „	5 Tage
12	M., Giovanni	Polyorromenitis	10 „	48 „	überlebt
13	G., Giovanni	Pleuritis tuberculosa	10 „	48 „	„
14	R., Luigi	„ „	10 „	48 „	„
15	P., Antonio	„ „	20 „	48 „	24 Stunden
16	P., Arnaldo	Polyorromenitis	20 „	48 „	48 „
17	R., Giovanni	Pleuritis tuberculosa	20 „	48 „	18 „
18	C., Antonio	„ „	20 „	48 „	überlebt
19	G., Luigia	„ „	20 „	24 „	48 Stunden
20	O., Carlo	„ „	20 „	24 „	15 „
21	N., Carlo	Pleuritis durch Erkältung	10 „	24 „	10 „
22	G., Michele	„ „ „	20 „	48 „	12 „
23	D., Pietro	Ascites infolge von Lebercirrhose	10 „	24 „	10 „
24	C., Francesco	Hydrothorax infolge von Herzleiden	20 „	48 „	14 „

Die beiden obigen Tabellen sind sehr beweiskräftig: Aus denselben geht hervor, daß die tuberkulösen Exsudate im allgemeinen eine deutliche Schutzwirkung gegen die akute Tuberkulinvergiftung der Tiere entfaltet haben.

Diese Schutzwirkung ist bewiesen:

1) Durch den verspäteten Eintritt des Todes bei den mit den einzelnen tuberkulösen Exsudaten injizierten Tieren nach der Tuberkulineinspritzung im Vergleich zu den Kontrollen.

2) Durch das Ueberleben mehrerer Tiere nach der Tuberkulinvergiftung (s. Tabelle I und II).

Aus diesen Versuchen geht ferner im speziellen hervor, daß die optimale Dosis (mittlere Dosis) des tuberkulösen Exsudates, welches eine Schutzwirkung auf das Tier entfaltet, 10 ccm ist, und daß die Dosis von 20 ccm in einigen Fällen zwar den Tod des Tieres verspätete oder dieses rettete, in anderen aber, und zwar bei der Mehrzahl unserer Versuche, die Tuberkulinvergiftung beförderte. Dies ist wahrscheinlich auf die Aggressinwirkung zurückzuführen, welche bekanntlich alle Exsudate besitzen. Dafür spricht auch die Tatsache, daß, wenn die 20 ccm des Exsudates 24—48 Stunden vor dem Tuberkulin eingespritzt wurden, die betreffenden Tiere stets später zugrunde gingen als die Kontrollen. Diese Erscheinung nimmt uns nicht wunder, wenn wir bedenken, daß das Aggressin, wenn es zu gleicher Zeit injiziert wird, befördernd, und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wenn es in einem gewissen Zeitabschnitt vorher eingespritzt wird, immunisierend wirkt.

Was die angewendeten Dosen der Exsudate anbelangt, so sei bemerkt, daß dieselben bei den Resultaten, welche sie ergaben, nicht in absolutem Sinne, sondern als Durchschnittszahlen zu betrachten sind, da die antitoxische Wirkung von Exsudat zu Exsudat eine verschiedene ist.

2. Bestimmung des Agglutinationsvermögens der tuberkulösen Exsudate.

Das Agglutinationsvermögen wurde nach der Methode von Arloing-Courmont mit homogener Kultur von Tuberkelbacillen in progressiver Verdünnung (von 1 : 5 bis 1 : 30) bestimmt, und zwar in der Weise, daß die Phasen der Agglutination nach 4, 6 12 und 24 Stunden verfolgt wurden.

Courmont, welcher der erste war, der Untersuchungen über das Agglutinationsvermögen der tuberkulösen Exsudate ausführte, berichtet, daß unter 11 Fällen von klinisch tuberkulösen Bauchfellentzündungen bei 10 das Exsudat eine spezifische positive Agglutination zeigte, während bei Exsudaten bestimmt nicht tuberkulöser Natur die Agglutinationsprobe stets negativ ausfiel.

Romanelli, welcher in der hiesigen Klinik in 7 Fällen von tuberkulöser Pleuritis, von tuberkulöser Peritonitis und von Polyserositis das Agglutinationsvermögen untersuchte, erhielt in 3 Fällen eine positive Reaktion bei 1 : 5 bis 1 : 30, und in den übrigen 4 eine negative.

Wir haben bei 20 tuberkulösen Exsudaten 5mal eine positive Reaktion bei 1 : 10, 5mal eine positive bei 1 : 5 und 9mal eine negative Reaktion beobachtet (s. Tabelle III).

3. Bestimmung des Präzipitationsvermögens der tuberkulösen Exsudate.

Dasselbe wurde in der Weise bestimmt, daß die einzelnen Exsudate zu gleichen Teilen mit der bacillären Pulpa in Berührung gebracht und nach kurzdauerndem Verweilen im Thermostaten beobachtet wurde, ob sich an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten der charakteristische Ring bildet.

Romanelli hat in der bereits erwähnten Arbeit bei 7 untersuchten tuberkulösen Exsudaten 1mal eine positive Reaktion und 1mal eine Andeutung auf eine solche beobachtet.

Wir haben bei 20 tuberkulösen Exsudaten, die wir untersuchten, nur 2mal eine positive Reaktion beobachtet (s. Tabelle III).

4. Bestimmung der tuberkulösen Sensibilisatoren der tuberkulösen Exsudate.

Wir wendeten die klassische Methode von Bordet-Gengou an.

Als tuberkulöses Antigen fungierte ein mit 0,5-proz. Karbollösung hergestelltes Tuberkelbacillenextrakt.

Bei der biologischen Reaktion wurde $^1/_2$ ccm dieses Antigens mit je 1 ccm der bei 56° inaktivierten zu untersuchenden Exsudate angewendet.

Von dem Alexin (frisches Meerschweinchenalexin) wurde bei jeder Probe $^1/_{10}$ ccm angewendet; von dem hämolytischen Gemisch wurde bei jeder Probe 1 ccm benutzt, wobei $^2/_{10}$ aus hämolytischem Serum (System

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kaninchen-Ochse) und $^{8}/_{10}$ aus einer Aufschwemmung von gewaschenen roten Ochsenblutkörperchen in 19 ccm physiologischer Kochsalzlösung bestanden. Dieses hämolytische Gemisch wurde 5 Stunden nach Einführung des Alexin-Antigen-Exsudats in die Röhren zugesetzt.

Beim Aufschreiben der Resultate wurde nur die totale Hemmung der Hämolyse in Betracht gezogen.

Die ersten Beobachtungen über die Untersuchung der Exsudate der serösen Höhlen vermittelst der Komplementbindungsreaktion verdanken wir Bruck und Citron, welche in einigen tuberkuloseverdächtigen Pleuraexsudaten die Anwesenheit gelöster Bacillenstoffe nachwiesen.

Darauf folgten die Untersuchungen von Danielopulo und Slatineanu, welche in tuberkulösen Exsudaten komplementbindende Substanzen nachwiesen; diese sollen nach den genannten Autoren in den tuberkulösen Exsudaten konstanter als im Blutserum derselben Kranken nachweisbar sein.

Meyer erhielt bei vorwiegend aus Leichen entnommenen Exsudaten negative Resultate (6mal Hemmung der Hämolyse bei 30 untersuchten Exsudaten).

Negative Resultate erhielt auch Frugoni, welcher in einer wertvollen Arbeit über die Untersuchung des Blutserums und der Exsudate Tuberkulosekranker vermittelst der Komplementbindungsreaktion aus seinen Resultaten schließt, daß die Anwendung der Methode der Komplementablenkung auf die Aetiologie der tuberkulösen oder nicht-tuberkulösen Exsudate der serösen Höhlen weder sichere, noch konstante, noch spezifische Resultate liefert.

Romanelli beobachtete bei 7 untersuchten Fällen 2mal Hemmung der Hämolyse, während er in den übrigen 5 Fällen eine positive Hämolyse konstatierte.

Unsere Resultate stimmen vollkommen mit denjenigen der beiden letzten Autoren überein, wir haben nämlich bei 20 untersuchten tuberkulösen Exsudaten nur 5mal Komplementablenkung gegenüber dem tuberkulösen Antigen beobachtet, während bei den übrigen 15 Exsudaten stets positive Hämolyse erfolgte.

5. Bestimmung des opsonischen Vermögens der tuberkulösen Exsudate.

Zur Bestimmung des opsonischen Index der Exsudate haben wir die von Schupfer ausführlich beschriebene Technik angewendet, und zwar, wie dieser Autor rät, sowohl den Wrightschen opsonischen Index (Prozentsatz der durch jeden Leukocyten phagocytierten Keime und Verhältnis zwischen der Zahl bei dem betreffenden tuberkulösen Exsudat und derjenigen bei dem Kontrollexsudat oder Transsudat) wie den Simonschen (Prozentsatz der phagocytierenden Leukocyten und Verhältnis zwischen der bei dem tuberkulösen Exsudat gefundenen Zahl und derjenigen bei der Kontrolle), wie schließlich auch den mittleren opsonischen Index bestimmt, welchen Schupfer mit Recht vorschlägt als geeignet, ein zusammenfassendes Merkmal zur Beurteilung zu liefern.

Ueber das opsonische Vermögen der Exsudate im allgemeinen wurden spärliche Untersuchungen ausgeführt; es liegen hingegen zahlreiche Studien über den opsonischen Index des Blutserums bei verschiedenen Krankheiten vor.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die bedeutendste Arbeit über die Bestimmung des opsonischen Index der tuberkulösen Exsudate ist diejenige von Schupfer, welcher in dieser Beziehung 15 Exsudate untersuchte, unter denen sich 10 tuberkulöse befanden. Seine Schlußfolgerungen stimmen mit denjenigen von Simon, Mc Farland und Engle u. a. überein und lauten dahin, daß im allgemeinen die Opsonine keine konstante Spezifizität besitzen; daß ferner, was im speziellen den opsonischen Index der Exsudate und besonders der tuberkulösen Exsudate anbelangt, bei denselben dieser Index nie sehr niedrig war und seine Schwankungen nichts Spezifisches für den Kochschen Bacillus zeigten, ja sogar zuweilen für andere Keime stärker waren; und schließlich, daß der opsonische Index auch in seiner Beziehung zur Dauer der Resorption des Exsudats und der Heilung betrachtet keine konstante Regel liefert.

Es handelt sich also um negative oder kontradiktorische Resultate, auf welche man sich zweckmäßig nicht stützt, wenn man diagnostische Kriterien gewinnen will.

Wir haben unter den 20 untersuchten tuberkulösen Exsudaten nur bei 6 das Verhalten des opsonischen Index vollständig untersuchen und verfolgen können, und dabei stets den opsonischen Index der einzelnen tuberkulösen Exsudate mit demjenigen eines Exsudats aus einer Erkältungspleuritis oder eines Transsudats verglichen.

Die von uns erhaltenen Resultate, welche in Tabelle III dargestellt sind, zeigen einerseits, daß auch bei unseren Fällen der opsonische Index nie sehr niedrig war, während sie uns andererseits überzeugten, daß die Schwankungen des opsonischen Vermögens nicht in einer konstanten und direkten Beziehung zu den verschiedenen Evolutionsphasen des Exsudats — Zunahme, stationärer Zustand, Abnahme, Resorption — stehen.

Tabelle III.

Agglutinine. Präzipitine. Sensibilisatoren. Opsonischer Index.

No.	Name	Diagnose	Agglutinine	Präzipitine	Sensibilisatoren	Opsonischer Index (mittlerer)
1	M., Umberto	Pleuritis tuberculosa	—	—	+	0,84
2	M., Benedetto	„ „	—	—	—	1,42
3	C., Battista	„ „	+	—	—	1,68
4	S., Matteo	Peritonitis tuberculosa	—	+	—	1,84
5	O., Ersilia	„ „	—	—	—	1,40
6	L., Santo	Polyorromenitis	—	—	—	1,06
7	T., Giuseppe	Peritonitis tuberculosa	—	—	—	
8	B., Fortunato	Pleuritis tuberculosa	+	—	—	
9	R., Vittoria	„ „	—	—	—	
10	D., Luigi	„ „	+	—	+	
11	R., Luigi	„ „	—	+	—	
12	M., Giovanni	Polyorromenitis	—	—	—	
13	G., Giovanni	Pleuritis tuberculosa	—	—	+	
14	R., Luigi	„ „	—	—	+	
15	P., Antonio	„ „	+	—	—	
16	P., Arnoldo	Polyorromenitis	+	—	—	
17	R., Giovanni	Pleuritis tuberculosa	—	—	—	
18	C., Antonio	„ „	—	—	—	
19	G., Luigia	„ „	—	—	+	
20	O., Carlo	„ „	—	—	—	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Unsere Resultate sind aber nicht zahlreich, während alles, was sich auf dieses besondere Untersuchungsmittel bezieht, noch sehr umstritten ist; wir beschränken uns deshalb darauf, die von uns beobachteten Zahlen des mittleren opsonischen Index in der Tabelle darzustellen, ohne aus denselben irgendwelche besondere Schlußfolgerungen ziehen zu wollen.

Dies sind die von uns beobachteten positiven Tatsachen. Aus denselben, in ihrer Gesamtheit betrachtet, können wir folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1) Daß die in unseren Fällen in oben angegebener Weise untersuchten tuberkulösen Exsudate eine deutliche prophylaktische und schützende Wirkung gegen die akute Tuberkulinvergiftung bei Tieren entfalteten.

2) Daß bei einigen derselben (5 : 20) die Agglutinationsreaktion deutlich positiv bei 1 : 10 war (25 Proz.).

3) Daß die auf die Anwesenheit von spezifischen Präzipitinen gestützte Reaktion selten (2mal unter 20 untersuchten Exsudaten = 10 Proz.) positiv ausfiel.

4) Daß in unseren Fällen die Anwesenheit spezifischer Sensibilisatoren nicht häufig (5 positive Reaktionen unter 20 Exsudaten = 25 Proz.) nachgewiesen werden konnte.

5) Daß unsere Ergebnisse in bezug auf das opsonische Vermögen keine besonderen Schlußfolgerungen in dieser Hinsicht gestatten.

* * *

Aus diesen Ergebnissen geht in erster Linie ein großer Unterschied zwischen den Untersuchungsresultaten bezüglich des antitoxischen Vermögens der tuberkulösen Exsudate und denjenigen bezüglich der übrigen Eigenschaften derselben Exsudate hervor.

Während nämlich die Versuche in vivo (Antitoxine) deutlich positive Resultate ergaben, führten diejenigen in vitro (Agglutinine, Präzipitine, Sensibilisatoren, Opsonine) zu negativen oder widersprechenden Ergebnissen.

Daraus erhellt, daß bei diesen Exsudaten keine direkte Beziehung zwischen der Anwesenheit von Antitoxinen einerseits (Versuche in vivo) und dem Vorhandensein anderer immunisierender Eigenschaften (Versuche in vitro) besteht, und daß ferner keine Beziehung zwischen dem Bestehen der einzelnen dieser verschiedenen Eigenschaften (Agglutinine, Präzipitine, Sensibilisatoren, Opsonine) bei einem und demselben Exsudat vorhanden ist.

Der positive Teil unserer Untersuchungen besteht somit in dem Nachweis einer deutlichen antitoxischen Wirkung, welche die untersuchten tuberkulösen Exsudate gegen die akute Tuberkulinintoxikation der Tiere ausübten.

Durch welchen Mechanismus läßt sich eine so starke antitoxische Wirkung erklären, wie wir sie beobachten konnten? Haben die Exsudate direkt durch die Antitoxine gewirkt, welche sie enthalten oder haben sie eine indirekte Wirkung entfaltet, indem sie im tierischen Organismus besondere Schutzreaktionen und die Erzeugung besonderer Schutzstoffe bedingt haben?

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir neigen mehr zur ersten Annahme, d. h. daß die günstige Wirkung, welche die tuberkulösen Exsudate experimentell gegen die akute Tuberkulinvergiftung gezeigt haben, mehr als die Wirkung einer passiven Immunisierung zu betrachten ist, bedingt durch die Anwesenheit besonderer Schutzstoffe in den Exsudaten selbst, welche man mit einer generischen Benennung als antitoxisches Material bezeichnen könnte.

Diese Annahme scheint uns die wahrscheinlichste auch in Anbetracht unseres besonderen Versuchsverfahrens, welches, da es sich auf das Ueberleben der Tiere nach der akuten Tuberkulinvergiftung stützte und in einer einzigen Einspritzung tuberkulösen Exsudats bestand, jedenfalls nicht dazu angetan war, um im tierischen Organismus die Erzeugung aktiver Schutzstoffe herbeizuführen, wie es der Fall gewesen sein würde, wenn man Tiere, welche an einer chronischen Tuberkulinintoxikation litten, eine gewisse Zeit lang einer langsamen und graduellen Behandlung mit verschiedenen Exsudaten unterzogen hätte.

Wie nun auch der Mechanismus sei, durch welchen die untersuchten tuberkulösen Exsudate eine Verzögerung im Eintreten des Todes bewirkten oder die Tiere von diesem retteten, jedenfalls sind diese beträchtlichen antitoxischen Eigenschaften durch unsere Versuche deutlich nachgewiesen.

Literatur.

Badano, Gazz. d. Osped. e d. Clin. 1900. No. 33.
Bonardi, La Clin. med. it. 1898.
Bourget, Maillart, Andreae, zit. von Fede, Rif. med. 1906. No. 48.
Bréton, Gaz. d. hôpitaux. 1899. No. 25.
Bruck, Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 24.
Castellino. Il Morgagni. 1895.
Chauffard e Gombault, Soc. méd. d. hôpitaux. 1886. Avril.
Citron, Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 36.
Courmont, Congrès pour l'étude de la tuberculose. Paris, Juillet-Août 1898.
Debove e Renault, Soc. méd. d. hôpitaux. 1890. Juillet.
Danielopulo e Slatineanu, Compt. rend. de la Soc. de Biol. de Paris. 1909. No. 1 et 11.
Donzello, Gazz. Osped. e Clin. 1909. No. 131.
Fede, Rif. med. 1906. No. 48.
Frugoni, Policlinico Sez. med. 1910. No. 2.
Giard-Mangin, Rev. de méd. 1910. No. 2.
Gilbert, Gaz. d. hôpitaux. 1894.
Jona, Gazz. Osped. e Clin. 1907. No. 72.
Kelsch, Arch. de physiologie. 1886. Août.
Landolfi, Rif. med. 1904. No. 30.
Livierato, Spiro e Crossonini, E., Cronaca della R. Clin. med. di Genova. 1909. No. 18.
Maragliano, E., Rif. med. 1896. — Gazz. Osped. e Clin. 1899. No. 37; 1903. No. 47.
Marcon, Gaz. méd. de Paris. 1910.
Meyer, Dtsche med. Wochenschr. 1908. No. 20.
Mongour e Gentes, Sem. méd. 1900.
Péron, La Presse méd. 1898. Février. — Compt. rend. de la Soc. de Biol. de Paris. 1898. No. 32.
Romanelli, Cronaca della R. Clin. med. di Genova. 1909. No. 14.
Rossi e Garbarini, Gazz. Osped. e Clin. 1901.
Rummo, Congresso med. intern. 1891.
Scarpa, VII. Congr. med. intern. Roma 1896.
Schupfer, Policlin. Sez. med. 1910. No. 11—12.
Signorino, Giorn. intern. di scienze med. 1910. Marzo.
Tschigaeft, Russki med. vestink. 1902. No. 11.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Die Immunisierung und Behandlung der Tuberkulose.

Von Prof. Dr. **A. Bruschettini**[1]) aus Genua.

Wenn man vom Versuche von Robert Koch, als Heilmittel eine aus dem Tuberkelbacillus direkt entnommene Substanz zu gebrauchen, absieht, so sehen wir, daß alle seit mehr denn 20 Jahren gemachten Anstrengungen, ein spezielles Heilmittel gegen die Tuberkulose zu finden, nur ein Ziel im Auge gehabt haben, nämlich ein Serum zu finden, und man hat den Weg der aktiven Immunisierung verlassen, um ausschließlich denjenigen der passiven zu betreten. Die Methoden, die verfolgt wurden, um diese Heilsera aus Tieren und speziell aus dem Pferde zu erhalten, sind ungefähr dieselben. Alle Sera, welche wir kennen. erhält man, indem man an denjenigen Tieren Injektionen vornimmt, welche mehr oder weniger abgeschwächte, filtrierte und von der Hitze zerstörte Kulturen oder Bacillenextrakte oder auch die verschiedenen Tuberkuline hervorbringen.

Alle oder fast alle bekannten Sera erhalten in verschiedener Menge Agglutinine, Präzipitine, Opsonine und Komplement-fixierende Substanzen; sie sind imstande, in vitro und in Meerschweinchen die giftige Wirkung des Tuberkulins zu neutralisieren, aber wir besitzen noch kein Serum, das fähig ist, mit Sicherheit die Meerschweinchen vor der Tuberkuloseinfektion zu schützen, mag diese Infektion schon im Gange sein oder die Kultur nach der Einimpfung des Serums injiziert worden sein.

Es ist übrigens bekannt, daß die agglutinierende und präzipitierende Fähigkeit in keinem Verhältnis zur Immunisationsfähigkeit steht. Es ist ferner bekannt, daß ein Serum gar keine Komplement fixierende Substanzen enthalten und trotzdem stark immunisierende Kraft besitzen kann, und umgekehrt.

Wir wissen auch, daß der opsonische Index nicht der vollständige Inbegriff eines Serums ist. Und schließlich ist es bekannt, daß die festgestellte Intoxikation der Tuberkuline nichts zu schaffen hat mit derjenigen, die wir am Menschen und an mit Tuberkulose behafteten Meerschweinchen bemerken. In der Tat kann ein Serum, welches die Fähigkeit besitzt, große Quantitäten von Tuberkulin zu neutralisieren, keine Heilfähigkeit besitzen, wenn es einem tuberkulösen Meerschweinchen injiziert wird.

Alles dies ist logisch: So, wie bis jetzt die Sera gewonnen wurden, ist es nicht möglich, daß dieselben jene Eigenschaften besitzen, die wirklich nötig sind, um die Tuberkulosegifte zu neutralisieren und den Organismus kräftig zu immunisieren. Sie können diese Eigenschaften nicht besitzen, weil das Material, welches zur Impfung der zur Produktion des Serums bestimmten Tiere benutzt wird, hierfür nicht geeignet ist.

Bei der Tuberkulose haben wir es nicht, wie beim Tetanus und bei der Diphtheritis, mit spezifischen charakteristischen Toxinen zu tun, gegen welche man zu kämpfen hat. Bei der Tuberkulose befinden wir uns vielen Faktoren gegenüber; zahlreich sind die Gifte, die wir zu

1) Mitteilung, auf der Intern. Konferenz für Tuberkulose in Brüssel, Oktober 1910 vorgetragen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zerstören haben, und von diesen finden wir fast keine in unseren Kulturen. Die Substanzen, die wir in unseren flüssigen Nahrungsmitteln finden, können nicht tuberkulöse Gifte genannt werden; ihre Wirkung hat nichts mit der Tuberkulosevergiftung zu tun. Die flüssigen Kulturen, ob filtriert oder durch die Hitze zerstört, erzeugten in den Tieren ein phänomenologisches, nicht eigenartiges Bild. Und endlich sind sie in mancher Hinsicht demjenigen ähnlich, welches wir aus toten oder filtrierten Kulturen von Keimen, die keine eigenen und wirklichen Gifte besitzen, erhalten. Das Tuberkulin selbst ist nur ein Kunstprodukt, und seine Wirkung auf das Tier ist sehr verschieden von der Tuberkulosevergiftung.

Mit den Bacillenextrakten nähern wir uns mehr den Verhältnissen, die im Organismus vor sich gehen; aber es ist nötig, daß diese Extrakte gut präpariert sind; hohe Temperaturen (von 100—120°) sind ganz und gar zu vermeiden. Denn dadurch werden die Eigenschaften der Extrakte nicht nur nicht vermehrt, sondern diese Temperaturen sind dem Prozesse der Immunisierung sogar schädlich, da sie den größten Teil der nützlichen Substanzen zerstören. Uebrigens können Sera, die durch Injektionen von bloßen Bacillenextrakten gewonnen wurden, nicht alle jene Eigenschaften besitzen, welche ein Serum enthalten muß, welches mit Vorteil zur Heilung der Tuberkulose verwendet werden soll. Andererseits erhalten wir mit unseren Extrakten nicht dieselben Produkte, die sich im Organismus infolge des Todes, oder der Zerstörung des Tuberkelbacillus bilden. Man hat zu oft vergessen, daß der Tuberkelbacillus sich in der Lunge unter ganz anderen Bedingungen befindet, als derjenige in unseren künstlichen Nährböden.

Man kann dagegen einwenden: Sind nicht die Substanzen, die aus den toten oder zerstörten Tuberkelbacillen gewonnen werden, im Organismus und in den Kulturen „ähnlich"? — Nein! Zahlreiche Untersuchungen haben mir den Beweis dafür geliefert, daß die Substanzen, die aus den toten und zerstörten Tuberkelbacillen resultieren, sich in unseren Kulturen finden, und zwar in einem flüssigen Zustande, der sich nicht modifizieren läßt und dessen nicht spezifische Eigenschaften seine spezifische Wirkung stören. Im Gegensatze finden sie in der Lunge jene chemische Werkstätte im Organismus, die dieselben ausarbeitet und modifiziert, wie wir es mit unseren Mitteln, auch wenn wir direkt auf den Bacillus hinarbeiten, sicherlich nicht erreichen können. Außerdem müssen wir bei der Tuberkuloseinfektion auch den Produkten des Todes und der Zerstörung der Gewebe des Körpers Rechnung tragen. Es ist dem leider längst verstorbenen Prof. Carbone zu verdanken, daß wir die Wichtigkeit kennen, welche diese Substanzen, die aus der Zerstörung der Zellen resultieren, durch ihre giftigen Wirkungen für ihre Immunisationsfähigkeit haben. Aus dem Vorhergesagten muß man schließen, daß wir einen anderen Weg einschlagen müssen, um ein wirksames Mittel gegen die Tuberkulose ausfindig zu machen.

Das Ziel, das ich mir gesteckt habe, hatte nicht nur den Zweck, ein antitoxisches und bakterizides Serum zu gewinnen. Vorher angestellte Experimente hatten mich überzeugt, daß man auch mit einem solchen Serum nicht auf eine anhaltende und rasche Wirkung hoffen konnte, auch in Anbetracht der flüchtigen Wirkung der Sera. Ich hatte mir ganz besonders vorgenommen, beim Menschen eine aktive Immunisierung zu erlangen, welche das noch nicht verletzte Gewebe immun machen sollte, und die im Organismus eine Reproduktion der schützenden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Substanzen hervorbringen sollte. Infolge des langsamen Verlaufes der Tuberkuloseinfektion war dies nicht unmöglich.

Nach mehr als 10-jährigen Untersuchungen habe ich nun die Ehre, das Resultat meiner Untersuchungen vorzulegen. Sehr zahlreiche Beobachtungen, welche ich in diesem Zeitraume machte, und zwar ganz besonders in bezug auf die Bereitung der Tuberkulosegifte und auf das Material, das für die Impfung der größeren Tiere nötig ist, werden den Gegenstand späterer Veröffentlichungen bilden. Ich beschränke mich hier darauf, ein neues Heilmittel der Tuberkulose beim Menschen zu beschreiben, welches ich in Anbetracht seiner doppelten Wirkungskraft „Impfserum" nenne; es ist in der Tat das Resultat aus der Vereinigung eines Serums mit einer ganz unabhängig davon präparierten Impfsubstanz.

Das Serum wurde von Pferden gewonnen, die auf folgende Weise behandelt wurden:

1) Das benutzte Material bestand aus sehr jungen Kulturen in Agar oder Kartoffeln. Diese Kulturen wurden sorgfältig in einem Mörser zur Emulsion gebracht in einer 80-proz. physiologischen Lösung; sie waren während zweier Stunden bei einer Temperatur von 60° abgeschwächt und dann durch ein enges Drahtsieb durchgesiebt.

2) Endotoxine, welche bereitet wurden, indem man bei einer Temperatur von 56° mit 5-proz. Karbolsäure während eines Zeitraums von 5—7 Tagen junge Kulturen in Agar oder Kartoffeln extrahierte. Nach der Extraktion wurde während 24 Stunden geschüttelt und durch den Chardin-Filter filtriert.

3) Bacillen, die 5 oder 7 Tage in kleinen Kollodiumsäckchen im Bauchfelle von schon längst immunisierten Tieren (3—4 Monate) gelagert hatten.

4) Lungenextrakt, das auf folgende Weise präpariert war: Lebende und kräftige Bacillen wurden in die Ohrvenen eines Kaninchens eingeimpft. Nach 7 Tagen wurden in die Adern oder die Luftröhre Endotoxine geimpft, endlich wurde in die Ader eine leukocytophile Substanz injiziert und nach 24 Stunden wird das Tier mit Chloroform getötet. Dann werden die Lungen herausgenommen und mit Quarzpulver zerrieben. Hierauf bringt man sie zur Emulsion mit NaCl von 80 Proz., indem man einige Tropfen von Chloroform hinzufügt. Man läßt das Ganze dann 48 Stunden lang im Schüttelapparat und während der Nacht in warmem Zustande, und filtriert dann durch Papier- und Berkefeld-Filter.

5) Lebende und kräftige Bacillen.

Die Immunisierung wird dadurch bewirkt, daß man im ersten Stadium bei 60° Kulturen und Endotoxine und im zweiten Stadium lebende Bacillen injiziert und solche im Organismus präpariert. Wenn das Tier ohne Reaktion starke Quantitäten dieser beiden Qualitäten aushalten kann, geht man zur Injektion des Lungenextraktes über. Manchmal reagieren die Tiere heftig, dann hält man inne. Denn man muß sich erinnern, daß die starken Reaktionen der Produktion von gutem Serum schädlich sind. Wenn das Tier die Injektion des Lungenextraktes gut aushält, dann fährt man fort, 10- oder 12mal abwechselnd Extrakt und lebende Bacillen zu injizieren. Hierauf kann man das Serum entnehmen. Dieses Serum rettet, wenn es in einer Dosis von 2—5 ccm und in einem Zeitabschnitte von 48—60 Stunden Meerschweinchen injiziert wird, die Tiere vor einer Injektion von Tuberkelbacillen, die die Kontrolltiere in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

40 Stunden töten im Verhältnis von 68 Proz. Die bei Meerschweinchen mit einem meßbaren Quantum vorgenommene Injektion gibt uns, je nach dem Zeitraum, der verflossen ist zwischen der Injektion der Bacillen und jener des Serums, den Prozentsatz der Geretteten, der zwischen 28 und 30 Proz. für die nach dem 20. Tage injizierten Meerschweinchen und 52—54 Proz. für die nach dem 6. Tage injizierten schwankt. Trotzdem ist die mit diesem Serum erhaltene Immunität nicht von langer Dauer, und man muß sehr große Quantitäten anwenden. Aus diesem Grunde dachte ich, diesem Serum einen Impfstoff beizufügen, den ich präpariert hatte, und von dem ich wußte, daß er eine große Immunisationsfähigkeit besaß.

Schon im Jahre 1899 hatte ich bewiesen, daß man aus Bacillen, die im Organismus kultiviert waren, immunisierende und heilkräftige Substanzen gewinnen könnte. Die ersten Versuche (auch beim Menschen vorgenommen) ergaben ermutigende Resultate, die mich jedoch nicht befriedigten, und ich setzte die in Angriff genommenen Untersuchungen fort, um die primitive Methode zu modifizieren und zu vervollkommnen. Jetzt endlich ist es mir mit einem Verfahren, welches ich nächstens beschreiben werde, gelungen, aus Bacillen, die ich längere Zeit im Innern der Gewebe wirken und wohin ich fortgesetzt einen Strom von Leukocyten zufließen ließ, eine Substanz zu erhalten, die fähig war, Meerschweinchen und Kaninchen eine nicht nur sichere, sondern auch lange dauernde Immunität zu geben. (Bei Meerschweinchen wurde sie nach 11 Monaten noch nachgewiesen.) Als Lösungsmittel habe ich mich des oben beschriebenen spezifischen Serums bedient, und alles wird vermittelst Berkefeld- und Pukall-Filter filtriert. Dieser Impfstoff wird dann im Verhältnis 1:5 mit dem Immunisierungsserum vermischt, und diese Mischung bildet meinen Serumimpfstoff.

Welches sind nun dessen Eigenschaften? Als Präventivmittel schützt er die Meerschweinchen im Verhältnis von 82—86 Proz.

Wenn man nach der Infektion eine Injektion vornimmt, so werden die Meerschweinchen im Verhältnis von 55—58 Proz. gerettet, wenn am 20. Tage injiziert wurde; wenn aber am 6. Tage injiziert wurde, in einem Verhältnisse von 68—72 Proz.

Die Kontrolltiere starben im Durchschnitt innerhalb 40 Tagen.

Soviel, was die Tiere betrifft! Was den Menschen anbelangt, wo keine Reaktion vorkommt, außer den von mir bemerkten Fällen und dem sehr wichtigen, von Prof. Neumann in Davos bemerkten Falle, so erinnere ich an die Untersuchungen, welche im Brompton Consumption Hospital in London gemacht wurden, wo dank der Zuvorkommenheit des Herrn Dr. Hector Mackenzie, dem ich an dieser Stelle meinen wärmsten Dank ausspreche, Experimente mit sehr ermutigenden Erfolgen angestellt wurden (nach Verlauf von kaum 4 Monaten). Die Experimente wurden mehrfach wiederholt und auf äußerst schwere Fälle ausgedehnt.

Ich glaube nicht, das schwere Problem der Heilung der Tuberkulose endgültig gelöst zu haben, da dabei noch viel zu ergänzen und zu vervollkommnen ist. Aber ich bin überzeugt, eine neue Bahn eröffnet zu haben, welche immer Hoffnung auf einen Erfolg bieten wird, ganz besonders, wenn die Behandlung rasch und dauernd ist oder von Zeit zu Zeit wieder aufgenommen wird, damit nach der Hemmung der Infektion die übrigen Gewebe mit absoluter Sicherheit und dauernd immun gemacht werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über Antituberkulin[1]).

[Aus dem Institut für Hygiene der Königl. Universität Parma und dem Ospedale di S. Giovanni in Turin.]

Von Prof. **E. Bertarelli** und Dr. **L. Datta.**

Vor 3 Jahren hatte einer von uns, indem er an sich selbst Versuche von Immunisierung durch Tuberkulin ausführte, Gelegenheit, nachzuweisen[2]), daß im Blutserum ein durch die Methode der Komplementbindung nachweisbares Antituberkulin aufgetreten war. Deshalb behielt er sich vor, zu untersuchen, ob experimentell von der Anwendung eines Antituberkulinserums gegen die Tuberkulose ein Erfolg zu erwarten ist, und ob die Entstehung des Antituberkulins bei immunisierten Menschen eine Rolle bei dem Schutz gegen die Tuberkulose spielen kann.

Ein Teil dieser Frage wird (soweit es gestattet ist, aus Laboratoriumsversuchen solche Schlußfolgerungen zu ziehen) durch die wenigen, im folgenden kurz berichteten Untersuchungen beantwortet.

Während wir diese Untersuchungen ausführten, wurde die Entstehung der Antituberkuline infolge der Einführung von Tuberkulin in den Organismus oder bei spontanen tuberkulösen Prozessen von anderen Autoren beobachtet, und, abgesehen von den bekannten Arbeiten von Wassermann und Bruck über das Antituberkulin, besteht hierüber bereits eine ziemlich umfangreiche Literatur.

Ohne zu beanspruchen, alle die Arbeiten über diesen Gegenstand zu nennen, will ich mich darauf beschränken, diejenigen von E. Weil und W. Strauss, Pickert und Löwenstein, Pickert, Slatineanu und Daniélopolu, Christian und Rosenblat, Wolff-Eisner und Ascher zu erwähnen, welche im großen und ganzen die Erscheinung bestätigt und derselben eine mehr oder minder weittragende Bedeutung zugeschrieben haben.

Es genügen wenige Worte, um die Beobachtungen der genannten Autoren zu erwähnen, wobei ich gleich bemerken will, daß in der letzten Zeit verschiedene Arbeiten erschienen sind, welche sich in irgendeiner Beziehung dem von uns ins Auge gefaßten Argument nähern.

So haben M. Pickert und E. Löwenstein[3]) die Probe der Komplementablenkung für die Untersuchung vorgeschlagen, ob im Blute Tuberkulosekranker sich diejenigen Schutzvorgänge abspielen, von denen ein nachweisbarer Ausdruck in der Anwesenheit des Antituberkulins besteht. Dann hat Pickert[4]) diese Möglichkeit bestätigt und sich bemüht, zu untersuchen, in welcher Weise das Antituberkulin sich bei Menschen bildet, welche eine natürliche Schutztätigkeit gegen den Tuberkuloseprozeß aufweisen, von welchem sie befallen sind. Dieser Autor glaubte auf Grund seiner Beobachtungen behaupten zu können, daß die Entstehung der tuberkulinischen Antikörper (sowohl bei der spontanen wie bei der durch Tuberkulin verliehenen Immunität) sich nachdem bereits für andere Immunitätsprozesse festgestellten Gesetz der einfachen Proportionen und der konstanten Beziehungen verhält.

---

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl (Turin).
2) Bertarelli, E., La tubercolosi. 1907.
3) Dtsche med. Wochenschr. 1908. No. 52.
4) Dtsche med. Wochenschr. 1909. No. 35.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aehnliche Untersuchungen haben E. Weil und W. Strauss[1]) ausgeführt; diese Autoren haben, indem sie als Antigen das Tuberkulin anwendeten, bei Tuberkulosekranken spezifische tuberkulinische Antikörper nachgewiesen, und ferner aus mehreren klinischen Beobachtungen geschlossen, daß diese Antikörper bei Individuen, die heftig auf Tuberkulin reagieren, sehr deutlich auftreten, so daß man nicht annehmen kann, daß diese Antituberkuline imstande sind, sich im Körper mit dem Tuberkulin zu binden, und es somit sehr zweifelhaft erscheint, ob sie in Wirklichkeit bei den Schutzvorgängen des Organismus gegen die Tuberkuline oder auch nur gegen die Vergiftung durch die im Verlaufe dieser Krankheit entstehenden Gifte eine Rolle spielen.

W. Christian und S. Rosenblat sind noch weiter gegangen: Es ist ihnen nicht nur gelungen, durch die Komplementbindungsreaktion die Anwesenheit von Antituberkulin im Körper von Menschen mit tuberkulösen Läsionen nachzuweisen, sondern sie haben bei Meerschweinchen den Entstehungsort des Antituberkulins aufzufinden gesucht, und behauptet, daß, soweit es sich um tuberkulöse Meerschweinchen handelt, das während des tuberkulösen Prozesses spontan entstehende Tuberkulin, keine hämatische, sondern eine celluläre (Infektionsherde) Herstammung hat. Diese Untersuchungen haben aber den großen Fehler, daß sie an Meerschweinchen ausgeführt wurden, also an Tieren, welche, nach den Autoren, nicht imstande sind, Antituberkulin zu erzeugen.

Wolff-Eisner und Ascher[3]) haben ebenfalls nachgewiesen, daß in allen Stadien der Tuberkulose im Kreislauf durch die Komplementbindungsreaktion Antituberkulin nachweisbar ist, selbst wenn kein Tuberkulin verabreicht worden ist. Diese Autoren sind der Ansicht, daß das Antituberkulin als Bezeichnung für den Antikörper oder die Antikörper, welche durch die Komplementablenkungsreaktion nachgewiesen werden, unpassend ist, weil diese Reaktion nicht nur positiv ausfällt, wenn man als Antigen das Tuberkulin anwendet, sondern auch wenn man dazu andere, auf verschiedenem Wege aus den Tuberkelbacillen gewonnene Stoffe benutzt.

Schießlich haben Slatineanu und Daniélopolu[4]) Tierversuche ausgeführt, um experimentell ein durch die Komplementbindungsreaktion nachweisbares Antituberkulin zu gewinnen; es ist ihnen auch tatsächlich gelungen, bei der Ziege ein Antituberkulin zu erzeugen. Diese Untersuchungen sind die einzigen, welche sich auf die experimentelle Erzeugung von Antituberkulin bei gesunden Tieren beziehen, während alle vorhergenannten Untersuchungen dahin zielten, im Antituberkulin ein Schutzmittel des Tuberkulosekranken nachzuweisen und den Nachweis des Antituberkulins als ein Untersuchungsmittel für die Diagnose der Tuberkulose einzuführen.

Die ersten von uns auf diesem Gebiete vorgenommenen systematischen Untersuchungen beziehen sich auf die Erzeugung von Antituberkulin bei den Versuchstieren. Daß man die Entstehung eines (z. B. durch die Komplementablenkungsreaktion nachweisbaren) Antituberkulins erzielen kann, ist wohl allgemein bekannt. So ging auch aus den von einem von uns früher ausgeführten und bereits erwähnten Versuchen[5]) hervor, daß

1) Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 21.
2) Münchn. med. Wochenschr. 1908. No. 31.
3) Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 37.
4) Compt. rend. soc. biol. 1908. No. 15.
5) Diese Versuche wurden veröffentlicht, bevor über diesen Gegenstand experimentelle Arbeiten erschienen waren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

man bei mit Tuberkulin inokulierten Menschen ein Antituberkulin nachweisen kann.

Wir haben untersucht, wie es sich mit dem Auftreten, dem Entstehen des Antituberkulins bei den behandelten Tieren verhält, innerhalb welcher Grenzen das Antituberkulin zunimmt usw. Nachdem wir dann durch die Komplementbindungsreaktion die wirkliche Anwesenheit von Antituberkulin nachgewiesen hatten, haben wir untersucht, ob ein antituberkulinisches Serum imstande ist:

1) den Verlauf der experimentellen Tuberkulose der Meerschweinchen zu beeinflussen;

2) bei Laboratoriumsversuchen die thermische Reaktion zu beeinflussen, welche auf die Tuberkulinisierung tuberkulöser Tiere folgt;

3) die tuberkulinische Cutireaktion beim Menschen (im Sinne einer Neutralisierung des Tuberkulins oder der Wirkung desselben) zu beeinflussen.

Zur Erzeugung antituberkulinischer Sera haben wir Hunde und Kaninchen benutzt. Die Behandlung geschah in verschiedenen Perioden; behandelt wurden etwa 30 Tiere. Anfangs wurden schwache Dosen (beim Hund 1 mg Alttuberkulin Koch; beim Kaninchen 0,5 mg) Tuberkulin inokuliert. Die Einimpfungen wurden jeden 6.—7. Tag wiederholt. Diese Behandlung wurde bei einigen Tieren sogar 6 Monate fortgesetzt, und dabei wurden recht hohe Tuberkulindosen (0,5 g beim Hund, 0,25 g beim Kaninchen) erreicht. Die Steigerung der Dosis geschah in den Einzelfällen in verschiedener Weise und nach verschiedenen Gesichtspunkten. Es hätte übrigens keinen Zweck, daß ich hier auf die diesbezüglichen Einzelheiten näher einginge, da dieselben keineswegs auf die Resultate der Versuche einen Einfluß ausüben.

Es sei gleich erwähnt, daß die inokulierten Hunde keine Störungen infolge dieser Behandlung aufwiesen. Etwas anders verhielten sich die Kaninchen, welche zuweilen nach einer gewissen Dauer der Behandlung abmagerten und durch eine langdauernde Behandlung beeinträchtigt zu werden schienen.

Die Anwesenheit des Antituberkulins wurde durch die Komplementbindungsreaktion, und zwar ganz genau nach der Technik der Wassermannschen Reaktion, nachgewiesen.

Hier seien mir einige Bemerkungen gestattet.

Bezüglich des bei der Reaktion angewendeten Antigens (Tuberkulin) will ich erwähnen, daß es zweckmäßig ist, etwas schwache Verdünnungen des Tuberkulins (wenigstens 1 : 25, 1 : 50), und zwar dieselben Volumina anzuwenden, wie es sonst mit dem syphilitischen Antigen geschieht.

Wenn die Verdünnungen zu sehr konzentriert sind, so läuft man Gefahr, daß das Tuberkulin das Komplement direkt bindet und somit die Erscheinung der Komplementablenkung unabhängig von einer Beteiligung des Antituberkulins an den Wirkungsmechanismus eintritt.

Bei den Prüfungen wurden stets Kontrollproben mit Serum nicht behandelter Tiere ausgeführt.

Wir gingen folgendermaßen vor: Vor der Behandlung wurde im Serum des Tieres auf ein eventuell schon vorhandenes Vermögen gefahndet, die Erscheinung der Komplementablenkung zu geben. Dann begann die Behandlung. Nach Beginn derselben wurden in verschiedenen Zeitabständen Untersuchungen über das Auftreten des Antituberkulins ausgeführt und die Menge und die Grenzen desselben bestimmt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach beendeter Behandlung, d. h. in einer zeitlichen Entfernung von mehreren Monaten von derselben, wurde eine neue Blutuntersuchung und Bestimmung des Antituberkulins vorgenommen.

Der schwächste Punkt der Untersuchungen, bei welchen nur Annäherungswerte erzielt werden können, ist die quantitative Bestimmung des Antituberkulins. In dieser Beziehung liefert die Methode der Komplementbindungsreaktion bei weitem nicht so genaue Resultate, wie man sie z. B. auf einem anderen Gebiet durch die Agglutinationsprobe erhält.

Bei der Komplementablenkungsreaktion kann man zwar das Volumen des den Antikörper enthaltenden Serums reduzieren und somit eine geringere Menge von Antikörpern wirken lassen: Wenn man aber bei der Verdünnung des Serums eine gewisse Grenze überschreitet, so bleibt das Resultat ganz aus. Dabei entsteht der Zweifel, daß das Ausbleiben der Resultate nicht von der Spärlichkeit der Antikörper, sondern von der Natur und den Erfordernissen der angewendeten Methode selbst abhängt.

Aus unseren Untersuchungen in dieser Richtung ergab sich folgendes:

Sowohl beim Hunde wie beim Kaninchen erzielt man durch die Behandlung mit Kochschem Alttuberkulin das Auftreten eines Antituberkulins, welches durch die Komplementbindungsreaktion nachweisbar ist.

Das Kaninchen reagiert, auch wenn man die Gewichtsunterschiede berücksichtigt, auf die Tuberkulineinspritzung rascher und besser durch Erzeugung von Antituberkulin, als der Hund.

Auch infolge der Einspritzung verhältnismäßig kleiner Tuberkulinmengen treten durch die Komplementbindungsreaktion nachweisbare Antikörper auf; zuweilen weist das Kaninchenserum bereits nach 2 Tuberkulineinspritzungen einen Gehalt an Antikörpern auf. Gewöhnlich ist jedoch eine 1 Monat dauernde Behandlung (5 Einspritzungen) erforderlich, um eine deutliche Komplementablenkung beobachten zu können.

Gleich von Anfang an starke Dosen einzuspritzen, scheint weder in bezug auf das rasche Auftreten des Antituberkulins noch hinsichtlich der Intensität der Reaktion zweckmäßig zu sein. Wenn man die Behandlung länger fortsetzt, kann man vermittelst der Komplementbindungsreaktion eine Vermehrung der auftretenden Antikörper nachweisen; diese Vermehrung ist jedoch inkonstant und sehr beschränkt, und es besteht kein bestimmter Parallelismus zwischen der eingespritzten Tuberkulin menge und der durch die Komplementablenkungsreaktion nachweisbaren Menge der Antikörper.

Bei dem Antituberkulin kann man nicht solche genetische Phasen unterscheiden, wie sie beim Auftreten gewisser Agglutinine nachgewiesen worden sind, d. h. Auftreten, Abnahme, dann von neuem Zunahme des Agglutinins. Die Methode der Komplementablenkung eignet sich übrigens wenig zum Nachweis von Erscheinungen dieser Art.

Schließlich gestattet eine mehrere Monate hindurch fortgesetzte Behandlung (wohlverstanden bei den heutzutage bei der Komplementbindungsreaktion üblichen technischen Modalitäten) es nicht, jenseits einer sehr niedrigen Grenze die Zunahme des im Kreislauf vorhandenen Antituberkulins nachzuweisen. Dagegen gelingt es, wenn die Behandlung lange Zeit fortgesetzt wurde, selbst 6 Monate nach der letzten Tuberkulineinspritzung die Komplementablenkung zu bewirken.

Im großen und ganzen haben somit unsere Untersuchungen die Leichtigkeit, die Entstehung von Antituberkulin zu erzielen, bestätigt,

Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

ohne daß jedoch in der Kurve der Entstehung dieser Substanz besonders bemerkenswerte und derartig konstante Erscheinungen zu beobachten gewesen wären, daß man auf Grund derselben hätte allgemeine Gesetze aufstellen können.

* * *

Die von uns angestellten Versuche, um festzustellen, ob ein antituberkulinisches Serum imstande ist, den Verlauf der experimentellen Tuberkulose zu modifizieren und den Prozeß selbst abzuschwächen resp. zu verzögern, haben keine Resultate gegeben.

Zu diesen Versuchen wurden aus von unserem Willen unabhängigen Gründen, und zwar wegen zwingender Laboratoriumserfordernisse, die die Benutzung anderer Tiere ausschlossen, Meerschweinchen benutzt; man wird deshalb gegen unsere Experimente einwenden können, daß das Meerschweinchen sich zu solchen Untersuchungen schlecht eignet, weil es für Tuberkulose äußerst empfänglich ist und die Krankheit bei ihm einen äußerst raschen Verlauf zeigt.

Bei den Versuchen sind wir sehr verschieden vorgegangen, indem wir bald zu gleicher Zeit kleine Dosen von Kulturen von menschlicher oder Rindertuberkulose (subkutan nie mehr als 2 cmm) und das Serum (bald Serum durch Tuberkulin immunisierter Kaninchen, bald Serum immunisierter Hunde) inokulierten, bald die Tiere zuerst mit Tuberkulin behandelten und ihnen dann das Bakterienmaterial oder die infizierten Sputa einimpften, bald die Tiere zuerst infizierten und dann einer regelmäßigen Behandlung unterzogen. Obwohl aber unsere Versuche an einem äußerst reichlichen Material wiederholt wurden, konnten wir beim Meerschweinchen keine Erscheinungen nachweisen, aus welchen eine modifizierende Wirkung des Tuberkulins hervorgegangen wäre.

Die negativen Resultate dieser Versuche beweisen keineswegs die Unmöglichkeit, bei anderen weniger empfänglichen Tieren einen Einfluß der antituberkulinischen Sera auf den Verlauf der experimentellen allgemeinen Tuberkulose nachweisen zu können; beim Meerschweinchen aber fiel dieser Versuch, wie gesagt, absolut negativ aus.

Beim Meerschweinchen äußert selbst eine lange fortgesetzte Vorbehandlung mit Tuberkulin keinen Einfluß auf eine darauffolgende tuberkulöse Infektion. Vielleicht kann man bei einer gewissen Anzahl von vorbehandelten Meerschweinchen eine Verlängerung des Verlaufes der nach der Immunisierung geschehenen Tuberkuloseinfektion beobachten: Diese Erscheinung ist aber allzu inkonstant und hat außerdem einen so geringen Wert, daß man unmöglich irgendein Gesetz aufstellen kann.

Hierzu sei bemerkt, daß die vor der Infektion tuberkulinisierten Meerschweinchen in ihrem Körper sicher Antituberkulin enthalten, da dasselbe durch die Komplementbindungsreaktion sehr leicht nachweisbar ist.

Können nun diese negativen Resultate einen Wert für den Menschen haben? d. h. kann man aus den Meerschweinchenversuchen folgern, daß auch beim Menschen eine präventive Antituberkulinbehandlung auf eine eventuelle später stattfindende tuberkulöse Infektion wirkungslos ist?

Diese Frage hat in praktischer Hinsicht ein gewisses Interesse. Für gewisse Personen, welche aus Gewerbe- oder Familiengründen gezwungen sind, mit Tuberkulösen zusammen zu leben, könnte es eventuell zweckmäßig resp. nützlich erscheinen, sich durch eine Tuberkulinbehandlung gegen die Tuberkulose aktiv zu immunisieren. Wenn auch nicht a priori

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Annahme logisch erscheint, daß das Tuberkulin gegen die Tuberkulose in dem Sinne immunisiert, daß eine Tuberkulinbehandlung eine Tuberkuloseinfektion hintanhält, so könnte doch der Gedanke nahe liegen, daß die Tuberkulinbehandlung wenigstens gegen die Gifte, oder gegen gewisse Gifte des Tuberkelbacillus immunisiere. So wäre es möglich — angenommen, daß die soeben aufgestellte Hypothese der Wirklichkeit entspräche — daß bei einem gegen das Tuberkulin immunisierten Menschen obwohl derselbe mit Tuberkulose infiziert werden kann, z. B. nicht jene Temperaturerhöhungen einträten, welche den typischen Ausdruck der Vergiftung mit den von dem spezifischen Keim herrührenden Giften darstellen.

Nun ist das Meerschweinchen ein sehr empfindliches Tier, so daß die Erscheinungen, welche es aufweist, in bezug auf den Menschen nur einen relativen Wert haben. Jedenfalls ist auf Grund der negativen Resultate der Meerschweinchenversuche ein Nutzen einer tuberkulinischen Immunisierung selbst in dem soeben erwähnten Sinne als wenig wahrscheinlich zu betrachten; man kann aber für den Menschen eine solche Möglichkeit nicht ohne weiteres in Abrede stellen.

* * *

Es erschien interessant, festzustellen, ob die antituberkulinischen Sera, obwohl sie keinen Einfluß auf den Verlauf der Meerschweinchentuberkulose besitzen, nicht imstande sind, die Temperaturerhöhungen zu modifizieren, welche die tuberkulösen Tiere zeigen, wenn ihnen Tuberkulin eingeimpft wird.

Man kann sich leicht vorstellen, wie die diesbezüglichen Untersuchungen angeordnet wurden. Eine Reihe von Meerschweinchen von derselben Herkunft, von annähernd gleichem Gewicht und von gesundem Aussehen, welche unter gleichen Bedingungen in getrennten Käfigen gehalten wurden, wurde durch subkutane Einspritzung kleiner Mengen von zerriebenen und mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten tuberkulösen Sputis mit Tuberkulose infiziert.

Dann wurde in verschiedenen Zeitabständen, d. h. 3—4 Wochen nach der Infektion, ein Teil der Tiere in einer bestimmten Weise der Tuberkulinprobe unterzogen.

Einigen Tieren wurden, nachdem ihnen vorher die Rektaltemperatur gemessen worden war, kleine Tuberkulinmengen — die angewendete Dosis war $= {}^1/_{10}$ resp. ${}^2/_{10}$ mg Kochschem Alttuberkulin — eingeimpft; nach 2 Stunden und im Laufe weiterer 48 Stunden, nach je 6—8 Stunden, wurde die Rektaltemperatur gemessen.

Andere Tiere wurden in der Weise behandelt, daß ihnen dieselbe Menge Tuberkulin und ferner ${}^1/_2$ ccm eines antituberkulinischen Serums eingeimpft wurden, welches von Meerschweinchen geliefert wurde, die 5—6 Monate lang der Tuberkulinbehandlung unterzogen wurden waren.

Dabei wurde dafür Sorge getragen, daß das Volumen des eingeimpften Materials sowohl im Falle der Einimpfung des Gemisches: Serum + Tuberkulin, wie in demjenigen der Inokulation des Tuberkulins allein dieselbe Menge betrug.

Wir wollen einige Beispiele aus unserem Protokoll anführen:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchen α,
maximale Temperatur vor der Probe: 38,0° C.

5. Sept. 1910, 2 Uhr nachmittags: Subkutane Einspritzung von $^1/_{10}$ mg Tuberkulin + $^1/_2$ ccm von Serum B.

	8 Uhr abends:	Temperatur	38,9° C.
6. Sept.	8 „ morgens:	„	39,2° „
	8 „ abends:	„	38,9° „

Meerschweinchen β,
maximale Temperatur vor der Probe: 38,1° C.

5. Sept. 1910, 2 Uhr nachmittags: Subkutane Einspritzung von $^1/_{10}$ mg Tuberkulin

5. Sept. 1910	8 Uhr abends:	Temperatur	39,9° C.
6. „ 1910	8 „ morgens:	„	39,9° „
6. „ 1910	8 „ abends:	„	39,2° „

Meerschweinchen γ,
maximale Temperatur vor der Probe: 38,3° C.

5. Sept. 1910, 2 Uhr nachmittags: Intraperitoneale Einspritzung von $^1/_{10}$ mg Tuberkulin + $^1/_2$ ccm Serum.

5. Sept. 1910	8 Uhr abends:	Temperatur	39,6° C.
6. „ 1910	9 „ morgens:	„	39,3° „
7. „ 1910	8 „ „	„	38,9° „

Meerschweinchen δ,
maximale Temperatur vor der Probe: 38,2° C.

5. Sept. 1910, 2 Uhr nachmittags: Intraperitoneale Einspritzung von $^1/_{10}$ mg Tuberkulin.

5. Sept. 1910	8 Uhr abends:	Temperatur	39,8° C.
6. „ 1910	9 „ morgens:	„	39,7° „
7. „ 1910	8 „ „	„	39,2° „

Bei diesen Versuchen ist eine konstante Erscheinung zu beobachten, nämlich daß, wenn man neben dem Tuberkulin ein antituberkulinisches Serum einspritzt, die durch die Tuberkulinbehandlung hervorgerufene Temperaturerhöhung eine geringere ist.

Der Unterschied in der Temperaturerhöhung zwischen den mit Tuberkulin allein und den mit Tuberkulin + Serum behandelten Tieren war auch bei den übrigen Versuchen mehr oder minder derselbe wie bei obigen Beispielen, und betrug somit 0,5—1,0° C. Gewöhnliches Serum besitzt diese Eigenschaft nicht; es handelt sich also um eine Eigentümlichkeit des antituberkulinischen Serums.

Es sei jedoch bemerkt, daß das antituberkulinische Serum allein eingespritzt, in keinem Fall, d. h. bei keinem Meerschweinchen einen abschwächenden Einfluß auf den infektiösen Prozeß ausübte: Alle in dieser Weise behandelten Meerschweinchen starben mehr oder weniger nach eben derselben Zeitfrist wie diejenigen ohne Behandlung und wiesen Läsionen auf, an welchen nicht der gesteigerte Einfluß des antituberkulinischen Serums zu erkennen war.

Diese Meerschweinchenversuche legten den Gedanken nahe, einige Versuche am Menschen anzustellen, um festzustellen, ob auch bei den Erscheinungen der Tuberkulinreaktion (Cutireaktion) beim Menschen eine neutralisierende Wirkung des antituberkulinischen Serums auf das Tuberkulin nachweisbar war.

Wir stellten Versuche in dieser Richtung an und führten bei Kranken mit Tuberkuloseformen von verschiedener Art die Cutireaktion unter Anwendung bald einer 25-proz. Tuberkulinverdünnung allein, bald dieser

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verdünnung zusammen mit gleichen Volumina (1 Tropfen + 1 Tropfen) Serum aus. Die Proben (welche stets durch Versuche an Gesunden kontrolliert wurden) wurden in verschiedener Weise ausgeführt. So wurde das Gemisch: Serum + Tuberkulin bald ohne weiteres angewendet, bald vor der Anwendung $^1/_2$ Stunde im Thermostaten gehalten; ebenso wurde der Versuch gemacht, Serum und Tuberkulin nicht miteinander zu mischen, sondern getrennt auf die Haut einwirken zu lassen. Das Resultat war in sämtlichen Fällen negativ; das antituberkulinische Serum zeigte in keinem Fall eine vermindernde oder abschwächende Wirkung auf die durch das Tuberkulin hervorgerufenen Erscheinungen.

* * *

Aus den oben berichteten Versuchen geht somit hervor, daß man experimentell die Entstehung eines antituberkulinischen Serums erzielen kann, welches einen reichlichen Gehalt an Antikörpern durch die Komplementbindungsreaktion nachweisbar, für das Tuberkulin aufweist. Dieses Serum hat bei den Versuchen mit der Tuberkulinbehandlung tuberkulöser Meerschweinchen einen gewissen Grad von tuberkulinneutralisierender Wirkung aufgewiesen, und die bei den infizierten Meerschweinchen durch das Tuberkulin herbeigeführte fieberhafte Reaktion innerhalb gewisser Grenzen eingeschränkt; anderseits aber äußert dieses Serum nicht nur selbst in hohen Dosen angewendet, keinen sicheren Einfluß auf den Verlauf der experimentellen Meerschweinchentuberkulose, sondern ist auch nicht imstande, die Erscheinungen zu verringern, welche man bei der Tuberkulincutireaktion bei Tuberkulosekranken beobachtet.

Aus diesen Beobachtungen kann man noch keine wichtigen Schlußfolgerungen in bezug auf die Möglichkeit einer nützlichen Verwendung der antituberkulinischen Serotherapie oder auch nur auf die Möglichkeit einer immunitären Tuberkulinbehandlung zum Zwecke einer Verminderung der Empfänglichkeit für Tuberkulose oder wenigstens einer Verminderung — bei vorhandener Tuberkuloseinfektion — der allgemeinen Erscheinungen, welche auf die Tuberkulinvergiftung zurückgeführt werden, ziehen.

Die Empfänglichkeit des Meerschweinchens für die Tuberkulose ist so groß, daß man leicht einwenden kann, daß bei diesem Säugetier die Erscheinungen der Infektion und der Tuberkulinvergiftung anders verlaufen müssen, als beim Menschen.

Ferner hat der Gedanke einer immunisierenden Tuberkulinbehandlung, wenigstens im Sinne einer Abschwächung gewisser während der Tuberkulose eintretender Intoxikationserscheinungen derartig logische theoretische Grundlagen, daß man eine solche Möglichkeit ohne direkte Versuche am Menschen nicht in Abrede stellen kann. Aus den berichteten Versuchen ist aber zu schließen, daß es praktisch nicht leicht sein muß, auf diesem Wege nennenswerte Erfolge zu erzielen.

Leider ist uns noch zu vieles über die Gifte, welche die bei der Tuberkulose klinisch nachgewiesenen Vergiftungserscheinungen hervorrufen, und besonders über die Art und Weise unbekannt, in welcher der Immunisationprozeß gegen die von uns als tuberkuläre Gifte benannten Stoffe (welche vielleicht nur ein Teil der bei der Tuberkuloseinfektion erzeugten und wirkenden Gifte sind) verläuft, ein Immunitätsprozeß, welchen wir oft mit Hilfe einer Methode (Komplementbindung) nach-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weisen, welche uns höchstens zeigt, daß Antikörper entstanden sind, ohne jedoch anzugeben, welche Rolle dieselben bei den Schutzvorrichtungen des Organismus spielen.

Die erwähnten Versuche zeigen aber indirekt noch einmal, wie schwer es ist, auch nur gegen gewisse Produkte des Tuberkelbacillus irgendeine Form von Immunität zu erzeugen.

Nachdruck verboten.

Einfluss einiger Milchfermente auf Vitalität und Virulenz verschiedener pathogener Mikroorganismen.

[Aus der Universitätskinderklinik zu Palermo (Dir.: Prof. R. Jemma).]

Experimentelle Untersuchungen.

Von

Dr. **S. Cannata,** Assistenten. und Dr. **M. Mitra,** Praktikanten.

Eines der interessantesten Probleme der Kindertherapie ist zweifellos die Behandlung der Magen-Darmkrankheiten. In der Tat braucht man nur an die Häufigkeit zu denken, mit der in der ersten und zweiten Kindheit die Gastroenteritiden auftreten, um die zahlreichen bis heute verwendeten Behandlungsmittel zu rechtfertigen.

Nach dem Scheitern der Versuche der chemischen Antisepsis schlug die Therapie neuerdings einen neuen Weg ein, den der intestinalen Bakteriotherapie. Das Prinzip, auf das dieselbe sich stützt, besteht in der Modifikation der Bakterienflora des Darmes, indem an Stelle der Fäulnisbakterien andere nicht pathogene Keime von ausgeprägter antagonistischer Wirkung gegen die ersteren gesetzt werden. Diese Keime sind die sogenannten Milchfermente, eben weil sie die Gärung der Milch hervorrufen und sie zum Gerinnen bringen.

Bemerkt muß jedoch werden, daß der Gebrauch der gegorenen Milch als Nahrungs-, Genuß- oder Heilmittel seit alters her bekannt war. Die Römer gebrauchten die Oxygala und Meleca, die Griechen das σχίστον. Heute finden in verschiedenen Gegenden Verwendung das Koumiss, Kefir, Gioddu, Leben, Yahourt etc.

Auf dem Gebiet der Pädiatrie brachte 1887 Escherich als erster in Vorschlag, die alkalischen Gärungen (Fäulnis) mit Hilfe von Kulturen azidogener Mikroben zu bekämpfen. Späterhin verwendete Jäger eine zahlreiche Bakterien enthaltende Molke, Brudzinski Kulturen des Bac. lactis aërogenes, Filia Kulturen von Saccharomyces sardous, der aus dem sardinischen Gioddu isoliert wurde.

Massol, Cohendy, Michelson, Belonowsky benutzten den aus dem bulgarischen Yahourt isolierten Bac. bulgarus. Dieser Mikroorganismus soll eine ziemliche Menge Milchsäure und Spuren von Bernstein-, Essig-, Ameisensäure erzeugen und ein starker Antagonist des Bact. coli sein.

Lembke, Schütz, Bienstock, Tiercelin wiesen nach, daß die Einführung einiger Keime in den Darm die Entwickelung anderer hindert.

Tissier beobachtete, daß in der Darmflora der gesunden Kinder der Entwickelung nach ein obligater Anaërobe überwiegt, der Bac. bi-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fidus; dagegen verschwindet dieser Bacillus während der Darmstörungen oder zeigt sich in seiner Entwickelung herabgesetzt, um wieder aufzutreten, wenn die Darmkrankheit sich abschwächt oder sich verliert. Dieses synthetische Resultat stimmte mit der analytischen Tatsache überein, daß der Bac. bifidus viel Milchsäure entwickelte und dadurch die fäulniserregenden Gärungen inhibierte.

Weitere wichtige Untersuchungen sind durch Metschnikoff vorgenommen worden, welcher die Verwendung der gekochten Milch mit Zusatz von zwei säureerzeugenden Mikroorganismen, des Bac. bulgaricus und eines Streptobacillus, von Nutzen fand.

Rosenthal hat gefunden, daß der Typhusbacillus sich nicht in einem Boden entwickelt, in dem die Milchbacillen wuchern, daß der Bac. bulgarus die Entwickelung des Pyocyaneus und des Bac. Achalme verhindert, daß der Bac. bulgarus, gleichzeitig mit dem diphthericus eingesät, die Oberhand über letzteren gewinnt und nach 2 Tagen seine Entwickelung anhält.

Schießlich hat Fournier beobachtet, daß der Bac. bulgarus ein starker Antagonist des Meningococcus ist.

Auf Grund dieser Resultate ist in der Klinik die Verabfolgung von Milchfermentkulturen in verschiedener Form (Bouillon etc.) eingeführt worden; diese neue Therapie der Darmkrankheiten aber steht noch in den Kinderschuhen. Es fehlen in der Tat experimentelle Untersuchungen, welche uns erklären könnten, durch welche Wirkung es den Milchbakterien gelingt, die gewöhnlichen Fäulniserreger niederzuzwingen.

Hauptsächlich von Metschnikoff und Rosenthal wird angenommen, daß die wohltätige Wirkung der Milchfermente einzig und allein auf der Erzeugung von Milchsäure beruhe, welche die Entwickelung der Fäulnismikroorganismen verhindert. Diese Erklärung ist nicht zufriedenstellend, weil die Milchsäure, welche im Darm erzeugt wird, die Einwirkung des alkalisch reagierenden Pankreas- und Darmsaftes erleidet.

Laurent hält die Annahme für richtiger, daß die Milchfermente durch Sekretionsprodukte, welche das Darmterrain ungeeignet für die Entwickelung der Fäulniserreger machen, und durch eine Erscheinung der Lebenskonkurrenz wirken.

Stünde wirklich die Wirkung der Fermente im Zusammenhang mit ihrer Produktion an Milchsäure, so könnten wir uns bei der Behandlung der Magen-Darmleiden auf die Verabfolgung von Milchsäure beschränken, um den nämlichen, wenn nicht einen besseren Heileffekt zu erzielen. Wir wissen aber, daß die Verwendung der Milchsäure in der Therapie der infantilen Gastroenteritiden nicht die erhofften Resultate gegeben hat, und der Grund ist in der vorstehend angedeuteten Tatsache zu suchen, daß die Milchsäure, in den Darm gelangt, durch die Darmsäfte neutralisiert wird. Nun ist es klar, daß auch die Milchsäure, welche die Milchfermente in den Darmwegen erzeugen, durch den Darmsaft selbst neutralisiert werden muß.

Diesen Einwürfen gegenüber bleibt die Wirkungsweise der Milchfermente noch ungelöst. Angesichts jedoch der hohen Wichtigkeit, die ihre Verwendung auf dem Gebiet der Darmtherapie haben kann, ist es notwendig, uns über die von einigen Autoren bereits in der Klinik konstatierte Erscheinung klar zu werden und die Erklärung durch experimentelle Untersuchungen zu erbringen zu suchen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:18 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Deshalb haben wir es für nützlich gehalten, einige experimentelle Untersuchungen anzustellen, deren Ergebnisse wir hier mitteilen.

Es gibt 2 Arten von bakteriellen Milchfermenten, die Fermente der Milchsäure und die des Kaseins. Die ersteren machen die Milch sauer und wirken auf den Milchzucker, indem sie ihn in Kohlensäure und Milchsäure umwandeln, welche das Kasein zum Gerinnen bringt. Von diesen kommen 2 Arten vor; der hauptsächlichste von ihnen ist der Milchsäurebacillus Hueppe, der Bacillus von Grotenfelt, der neben der Kohlen- und Milchsäure Alkohol erzeugt, die Micrococci lactis I, II Hueppe, der Micrococcus von Marpmann, von Krüger, der Bac. butyricus (nicht der von Hueppe, welcher zu den Kaseinfermenten gehört) etc. Die Keime können als gewöhnliche Gäste des Darmes angetroffen werden, und sind nach einigen Autoren Abarten des Bact. coli commune.

Die alkalinisierenden Kaseinfermente wirken durch die Erzeugung einer Art von Labferment direkt auf das Kasein, indem sie es zum Gerinnen bringen; später peptonisieren sie durch die Sekretion eines zweiten Fermentes (einer Diastase) das geronnene Kasein, digerieren es, verflüssigen es; noch später erfolgt die Verdauung dieser Peptone und ihre Zersetzung in verschiedene Körper: Leucin, Tyrosin, Harnstoff, Ammoniumkarbonat und Fettsäuren (Ameisen-, Butter-, Essigsäure etc.).

Unter den Fermenten des Kaseins ist das gewöhnlichste von allen der Bac. subtilis, dann der Bac. mesentericus vulgatus, die Bacillen I, II, III Loeffler, der Bac. niger und thermophilus Gorini, der Bac. butyricus Hueppe etc.

Bei unseren Untersuchungen haben wir sowohl die Fermente der Milchsäure wie die des Kaseins verwendet. Von den Milchsäurefermenten haben wir gewählt den Bac. bulgarus, den Milchsäurebacillus Hueppe und einen Coccus, den wir aus saurer Kuhmilch isolierten und seinem morphologischen Aussehen nach als Monococcus bezeichnen.

Von den Fermenten des Kaseins haben wir verwendet den Bac. subtilis, der gewöhnlich in der Milch angetroffen wird, und den Bac. butyricus Hueppe.

In einer ersten Gruppe von Untersuchungen haben wir den Einfluß untersucht, den diese Fermente auf die Vitalität und Virulenz folgender Mikroorganismen ausüben: Bact. coli, Typhusbacillus, Paratyphus A und B; in einer zweiten Gruppe den Einfluß, welchen sie auf die Vitalität des Proteus vulgaris, des Bac. dysenteriae, des Staphylococcus aureus, des Bac. fluorescens, des Pyocyaneus, des Prodigiosus ausüben.

Die eingeschlagene Technik war folgende:

Es werden 24-stündige Kulturen auf klarinettschnabelartigem (?) Agar sowohl mit den Fermenten wie mit den pathogenen Bakterien angestellt; eine Oese der Kultur eines Fermentes und eine Oese des pathogenen Mikroorganismus wird in Röhrchen mit gewöhnlicher neutraler oder schwach alkalischer Bouillon und in Röhrchen mit steriler Milch eingesät. Anstatt einer Oese Agarkultur haben wir auch eine Oese einer Agarkulturlösung sowohl von den Fermenten wie von den pathogenen Bakterien eingesät.

Außerdem haben wir in Kulturen pathogener Mikroorganismen in Bouillon und in Milch nach 24 Stunden der Entwickelung bei 37° die Fermente eingeimpft (eine Oese einer 24-stündigen Agarkultur).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diese Untersuchungen wurden bei einer Temperatur von 37° und bei Zimmertemperatur gemacht und die Entwickelung der Mikroorganis- nach 6, 12, 24, 48, 52 Stunden mit Hilfe der Isolierplatten und darauffolgender Zählung der Kolonieen untersucht.

Sodann haben wir die Veränderungen untersucht, welche die Virulenz des Typhusbacillus, des B. coli, des Paratyphus A und B bei Symbiosis mit den Fermenten erfährt, und schließlich den Einfluß, welchen die abgetöteten Kulturen und die Filtrate der Milchfermente auf die Entwickelung einiger Keime ausüben.

I. Untersuchungen über die Vitalität.

1) Nach 6, 12 Stunden haben in den aus Symbiosiskulturen in Milch und Bouillon bei Zimmertemperatur und 37° hergestellten Isolierplatten der Bacillus bulgarus, der Milchsäurebacillus und der B. butyricus das Uebergewicht über den Typhusbacillus, das Bacterium coli, den Paratyphus A und B, den Dysenteriebacillus und Staphylococcus aureus, während sie sich in gleichem Maße wie Proteus vulgaris, Pyocyaneus, B. fluorescens, Prodigiosus entwickeln.

Der Monococcus und B. subtilis haben die Oberhand über den Typhusbacillus, den Paratyphus A und B, zeigen dagegen die gleiche Kolonieenentwickelung wie der Colibacillus, Dysenteriebacillus, Pyocyaneus, B. fluorescens, Staphylococcus aureus, Prodigiosus.

2) Nach 24, 48 Stunden bemerkt man, daß die Zahl der Kolonieen des B. bulgarus, des Milchsäurebacillus, des B. butyricus gegenüber derjenigen des Typhusbacillus, Paratyphus A und B, Dysenteriebacillus, Staphylococcus aureus eine sehr große ist, die des Bact. coli überwiegt und hinter der des Proteus und des Prodigiosus zurückbleibt. Die Zahl der Kolonieen des Monococcus überwiegt bei 37° die des Typhus, Paratyphus, ist nahezu gleich derjenigen des Dysenteriebacillus und des Staphylococcus aureus und bleibt hinter derjenigen der anderen Mikroorganismen zurück.

Bei Zimmertemperatur dagegen zeigt der Monococcus eine stärkere Entwickelung als alle pathogenen Keime, mit Ausnahme des Proteus und Prodigiosus.

Der Bac. subtilis überwiegt alle Mikroorganismen, Proteus und Prodigiosus ausgenommen.

3) Nach 3—4 Tagen haben alle Fermente die absolute Oberhand über die anderen Mikroorganismen; ihrer vitalen Konkurrenz widerstehen jedoch Proteus, Pyocyaneus und Prodigiosus, welche zuweilen eine üppigere Entwickelung zeigen als die Fermente.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich also, daß die Milchfermente in Symbiose mit einigen pathogenen Keimen im allgemeinen die Oberhand über letztere bis zur Verhinderung der weiteren Entwickelung derselben gewinnen; wenigen Keimen (Proteus, Pyocyaneus, Prodigiosus) gelingt es zuweilen, sich üppiger als die Fermente zu entwickeln.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In der zweiten Gruppe von Untersuchungen, d. h. bei den Kulturen pathogener Keime, denen nach 24-stündiger Entwickelung bei 37° die Fermente eingeimpft wurden, haben wir folgende Resultate erhalten:

Nach 24 Stunden sind sämtliche Fermente in Symbiose mit dem Typhusbacillus, Paratyphus A und B, Staphylococcus aureus, Dysenteriebacillus in ziemlicher Entwickelung; in spärlicher Quantität entwickeln sie sich in Symbiose mit dem Bact. coli und dem Bac. fluorescens, in minimaler Quantität in Symbiose mit dem Pyocyaneus, Prodigiosus, Proteus.

Nach 48 Stunden haben die Fermente das Uebergewicht über den Typhusbacillus, Paratyphus A und B, Staphylococcus aureus und Dysenteriebacillus; in spärlicher Anzahl sind sie gegenüber dem Bact. coli und dem Bac. fluorescens; keine werden in den Kulturen von Pyocyaneus, Prodigiosus und Proteus angetroffen.

Den Fermenten gelingt es also in Gegenwart einer großen Anzahl pathogener Keime nicht, ihrer sämtlich Herr zu werden; von den untersuchten Mikroorganismen wird nur ein Teil übermannt.

II. Untersuchungen über die Virulenz.

Tabelle I.

Verimpfung der Mikroorganismen in Symbiose.

Fortlaufende No.	Tier	Gewicht in g	Mikroorganismen in Symbiose (24 Stunden)	Tödliche Minimaldosis	Eingeimpfte Quantität	Art der Impfung	Ausgang
1	Meerschweinchen	370	Parat. A + Bac. bulgarus	2 ccm	5 ccm	Peritoneum	lebt
2	„	374	Parat. A + Monococcus	2 „	5 „	„	„
3	„	310	Parat. A + Milchsäurebacillus	2 „	5 „	„	„
4	„	320	Parat. A + Bac. subt.	2 „	5 „	„	„
5	„	340	Parat. A + Bac. butyricus	2 „	5 „	„	„
6	„	212	Parat. B + Bac. bulgarus	1/2 „	2 „	„	„
7	„	350	Parat. B + Monococcus	1/2 „	2 „	„	„
8	„	312	Parat. B + Milchsäurebacillus	1/2 „	2 „	„	„
9	„	283	Parat. B + Bac. butyricus	1/2 „	2 „	„	„
10	„	245	Parat. B + Bac. subt.	1/2 „	2 „	„	„
11	„	330	Coli + Bac. bulgar.	1 „	1 1/2 „	„	Tod vor 24 Stunden
12	„	415	Coli + Monococcus	1 „	1 1/2 „	„	dgl.
13	„	330	Coli + Milchsäurebac.	1 „	1 1/2 „	„	„
14	„	340	Coli + Bac. subtilis	1 „	1 1/2 „	„	„
15	„	370	Coli + Bac. butyr.	1 „	1 1/2 „	„	„
16	„	244	Typhus + Bac. bulg.	1 „	1 1/2 „	„	lebt
17	„	240	Typhus + Monococcus	1 „	1 1/2 „	„	„
18	„	325	Typhus + Milchsäurebacillus	1 „	1 1/2 „	„	„
19	„	340	Typhus + Bac. butyricus	1 „	1 1/2 „	„	„
20	„	260	Typhus + Bac. subt.	1 „	1 1/2 „	„	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.
Zu Kulturen von pathogenen Keimen zugesetzte Fermente; Einimpfung nach 24-stündiger Entwickelung in Symbiose.

Fortlaufende No.	Tier	Gewicht in g	Zu den Kulturen pathogener Keime zugesetzte Fermente	Tödliche Minimaldosis des pathog. Keimes	Eingeimpfte Quantität	Art der Impfung	Ausgang
1	Meerschweinchen	350	Parat. A + Bac. bulgarus	2 ccm	3 ccm	Peritoneum	lebt
2	„	375	Parat. A + Monococcus	2 „	3 „	„	„
3	„	300	Parat. A + Milchsäurebacillus	2 „	3 „	„	„
4	„	330	Parat. A + Bac. subt.	2 „	3 „	„	Tod nach 48 Stunden
5	„	300	Parat. A + Bac. butyricus	2 „	3 „	„	lebt
6	„	240	Parat. B + Bac. bulgarus	$^1/_2$ „	1 „	„	„
7	„	315	Parat. B + Milchsäurebacillus	$^1/_2$ „	1 „	„	„
8	„	280	Parat. B + Monococcus	$^1/_2$ „	1 „	„	„
9	„	312	Parat. B + Bac. butyricus	$^1/_2$ „	1 „	„	„
10	„	270	Parat. B + Bac. subt.	$^1/_2$ „	1 „	„	„
11	„	320	Coli + Bac. bulgar.	1 „	$1^1/_2$ „	„	Tod vor 24 Stunden
12	„	290	Coli + Monococcus	1 „	$1^1/_2$ „	„	dgl.
13	„	243	Coli + Milchsäurebac.	1 „	$1^1/_2$ „	„	„
14	„	255	Coli + Bac. subtilis	1 „	$1^1/_2$ „	„	„
15	„	318	Coli + Bac. butyr.	1 „	$1^1/_2$ „	„	„
16	„	320	Typhus + Bac. bulg.	1 „	$1^1/_2$ „	„	lebt
17	„	278	Typhus + Monococcus	1 „	$1^1/_2$ „	„	„
18	„	325	Typhus + Milchsäurebacillus	1 „	$1^1/_2$ „	„	„
19	„	210	Typhus + Bac. butyricus	1 „	$1^1/_2$ „	„	„
20	„	300	Typhus + Bac. subt.	1 „	$1^1/_2$ „	„	„

Die pathogenen Mikroorganismen, bei denen wir die Veränderungen der Virulenz bei Symbiose mit den Milchfermenten untersucht haben, waren, wie bereits erwähnt, der Typhusbacillus, das Bact. coli, der Paratyphus A und B.

Zunächst haben wir uns vergewissert, ob die Fermente eine Virulenz besitzen, und konnten konstatieren, daß sie, auch in hohen Dosen Meerschweinchen peritoneal eingeimpft, keinerlei pathogenes Vermögen zeigen.

Dann haben wir die tödliche Mindestdosis der pathogenen Keime für ein Meerschweinchen von ca. 300 g Körpergewicht festgestellt.

Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt:

a) Eine Oese 24-stündiger Agarkultur eines pathogenen Mikroorganismus und eine Oese Fermentkultur wurden zusammen in sterile Milch und in leicht alkalische Bouillon eingeimpft.

b) 24 Stunden bei 37° entwickelte Milch- und Bouillonkulturen von pathogenen Mikroorganismen wurden mit einer Oese Agarkultur der Fermente versetzt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sowohl aus der ersten wie aus der zweiten Reihe Symbiosekulturen wurden nach 24-stündiger Entwickelung bei 37° peritoneal Verimpfungen in Meerschweinchen gemacht. Die eingeimpfte Dosis war höher als die tödliche Mindestdosis eines jeden pathogenen Keimes. Die Resultate beider Versuchsreihen (s. Tabelle I und II) waren übereinstimmend und können, wie folgt, zusammengefaßt werden:

Der Typhusbacillus, der Paratyphus A und B werden durch die Fermente stark beeinflußt. In der Tat zeigen sie, in hohen Dosen eingeimpft, keinerlei pathogenes Vermögen mehr. Das Bacterium coli dagegen widersteht der antibakteriellen Wirkung der Fermente; nicht nur entwickelt es sich gut in Symbiose mit denselben, sondern verliert auch nicht seine Virulenz.

Aus den bisher beschriebenen Untersuchungen ergibt sich also, daß es den Milchfermenten gelingt, einige pathogene Keime niederzuzwingen. Durch welchen Mechanismus geschieht das? Ist diese antibakterielle Wirkung der Raschheit der Entwickelung der Fermente zuzuschreiben, oder chemischen Substanzen, Stoffwechsel- oder Zersetzungsprodukten (Proteinen), welche die Entwickelung der pathogenen Keime erschweren oder vollständig hemmen?

Was den Bac. bulgarus anbelangt, so sind fast alle in der Annahme einig, daß seine antibakterielle Wirkung auf der bedeutenden Produktion von Milchsäure beruhe.

Dies angenommen, könnten wir aus Analogie annehmen, daß die anderen Fermente durch Erzeugung von Milchsäure oder einer anderen Substanz, die imstande ist, die Entwickelung der untersuchten pathogenen Keime zu verhindern, wirken.

Somit ergibt sich die Notwendigkeit, zu untersuchen, ob in den Fermentkulturen eine Produktion von antibakteriellen chemischen Stoffen, hauptsächlich Säuren, vorliegt.

In diesen Kulturen war die Untersuchung auf die Milchsäure positiv, doch haben wir nie eine bedeutende Menge Milchsäure angetroffen; auch die Kulturen des Bac. bulgarus enthielten kleine Quantitäten. Die Untersuchung auf Ameisen- und Essigsäure war nicht immer positiv und ließ auch nur minimale Spuren derselben erkennen.

Daher können wir sagen, daß die antibakterielle Wirkung der Fermente nicht auf die Erzeugung von Säuren und speziell Milchsäure zurückgeführt werden kann; diese Substanzen werden in spärlicher Menge angetroffen, die zur Entwickelungshemmung der pathogenen Keime unzureichend ist.

Wie in der Tat neuerdings einer von uns (Mitra) nachgewiesen hat, sind zuweilen ziemliche Mengen (ca. $1^1/_2$—2 ccm) einer 10-proz. Milchsäurelösung auf 98 ccm vollkommen neutraler Bouillon notwendig, um die Entwickelung des Paratyphus B zu verhindern.

Und Nikolai Paus zeigte auch bereits 1908, daß der Typhusbacillus und das Bact. coli sich sehr wohl in einem an Fettsäuren, wie der Milchsäure, reichen Medium entwickeln können.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es bleibt nun noch zu untersuchen, ob die Stoffwechselprodukte und die Proteïne der Fermente imstande sind, das Wachstum der pathogenen Keime zu hemmen.

Hierzu haben wir folgende Versuche angestellt:

a) Bouillonkulturen von Fermenten (Bac. bulgarus, Milchsäurebacillus, Bac. butyricus etc.) wurden nach 1—3-tägiger Entwickelung bei 37° im strömenden Dampf abgetötet und mit Typhusbacillus, Bact. coli, Paratyphus A und B eingesät.

b) Bouillonkulturen derselben Fermente wurden nach 3-tägiger Entwickelung bei 37° durch den Chamberland-Filter filtriert. In das Filtrat wurden Einimpfungen mit den obengenannten pathogenen Keimen gemacht.

Sowohl in der ersten wie in der zweiten Versuchsreihe erhielten wir nach 24 Stunden reichliche Entwickelung der Bakterien.

Dies beweist, daß die Zersetzungsprodukte der Fermente (Proteïne) und ihre Stoffwechselprodukte keinerlei antibakterielle Wirkung auf den Typhusbacillus, das Bacterium coli, den Paratyphus A und B ausüben.

Schlußsätze.

Aus den mitgeteilten Untersuchungen ergeben sich folgende Tatsachen:

1) Einige Milchfermente (Bac. bulgarus, Milchsäurebacillus, Monococcus, Bac. butyricus, Bac. subtilis) besitzen eine ausgeprägte antibakterielle Wirkung gegen den Typhusbacillus, den Paratyphus A und B, den Dysenteriebacillus, den Staphylococcus aureus; dieser antibakteriellen Wirkung widerstehen eine Zeitlang das Bact. coli, der Bac. fluorescens; es entziehen sich ihr der Proteus vulgaris, der Prodigiosus und der Pyocyaneus.

2) Die Virulenz des Typhusbacillus und des Paratyphus A und B wird aufgehoben; die des Bact. coli widersteht.

3) Die antibakterielle Eigenschaft der Fermente beruht nicht auf der Erzeugung von chemischen Substanzen (Milch-, Ameisen-, Essigsäure); diese werden in so geringer Menge angetroffen, daß sie die Entwickelung der pathogenen Keime nicht hemmen können.

4) Die Proteïne und Stoffwechselprodukte der Fermente verhindern nicht die Entwickelung der untersuchten Bakterien.

5) Als allgemeinen Schluß können wir festlegen, daß die Fermente die Entwickelung einiger pathogener Keime durch eine Erscheinung vitaler Konkurrenz und nicht durch ihre Stoffwechselprodukte erschweren oder anhalten.

Wollen wir schließlich die Resultate unserer Untersuchungen aus dem experimentellen Gebiet auf das der Therapie übertragen, so müssen wir notgedrungen behaupten, daß bei der Behandlung einiger Darmkrankheiten die Verabfolgung der lebenden und nicht der abgetöteten Fermente von Nutzen sein kann.

Zu bemerken ist jedoch, daß der Wirkung dieser Fermente das Bact. coli und der Proteus vulgaris widerstehen, welche zwei

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mikroorganismen bei Kindern häufig die Ursache von zuweilen schweren Gastroenteritiden sind. Die Therapie der Gastroenteritiden der Kindheit dürfte also aus der Verwendung der Milchfermente keine großen Vorteile ziehen [1]).

Literatur.

Cohendy, M., Compt. rend. Soc. de Biol. 1906. 17 mars.
Metchnikoff, Quelques remarques sur le lait aigri. Paris 1906.
Fournier, De l'emploi des ferments en vue de la désinfection intest. (Presse méd. 1907. 26 janvier.)
Rosenthal, Bull. gén. de thérap. 1906. 15 mai.
Jemma, R., Allattamento artificiale. Firenze (Niccolai) 1900.
Franchetti, Batterioterapia intest. (Riv. di Clin. ped. 1910. marzo.)
Filia, A., L'azione del saccaromyces sardous nelle affezioni del tubo intest. dell'infanzia. (Rassegna di bacterio-opo-sieroterapia. 1908. luglio-agosto.)
Laurent, Contribution à l'étude des ferments lactiques. [Thèse.] Paris 1909.
Rosenthal, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 67. 1909.
Bienstock, Ann. de l'Instit. Pasteur. 1900.
Chazarain-Wetzel, Le bacille bulgare contre le bacille pyocyanique. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 67. 1909.)
— —, ebenda. T. 67. 1910.
— —, ebenda. p. 93—349.

Nachdruck verboten.

Zur Differenzierung der Dysenteriebacillen mittels der Komplementablenkungsmethode.

[Aus dem bakteriologischen Gabritschewski-Universitäts-Institut in Moskau.]

Von Dr. **Roman Lunz.**

I.

Im Anschluß an die in diesem Centralblatt (1) jüngst mitgeteilten Fermentierungs-, Agglutinations- und Bakteriolyseversuche mit verschiedenen Dysenteriebacillen prüfte ich auch dieselben Dysenteriestämme auf die Komplementbindungsreaktion mit verschiedenen spezifischen Dysenterieseris.

Zwecks Differenzierung der Dysenteriebacillenarten wurde diese Reaktion schon von Dopter, Haendel, Amako und Kojima und Grigliewitsch angewandt, die aber alle dabei zu recht widersprechenden Resultaten gelangten.

Dopter (2) benutzte bei seinen Komplementbindungsversuchen sowohl Kranken- wie auch Tiersera, und zwar Shiga-Kruse- und Flexner-Krankensera und Shiga-Kruse-Pferde- und Flexner-Kaninchenserum. In allen Fällen bekam er deutliche Hemmung der Hämolyse (auch mit Shiga-Kruse-Serum und Flexner-Stämmen, Flexner-Serum und Shiga-Kruse-Stämmen), und folgert daraus auf die Identität beider Dysenteriebacillenarten. Doch können seine Versuche nicht als beweisend genug angesehen werden, da er, wie aus seinen Mitteilungen zu ersehen, die quantitativen Verhältnisse gänzlich unberücksichtigt läßt und in allen Fällen nur unverdünnte Sera prüfte.

1) Cannata hat eine Reihe von Untersuchungen über die Bakteriotherapie der akuten infantilen Gastroenteritiden im Gange.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zu ganz anderen Schlüssen kam Haendel (3), der mit Esel-Shiga-Kruse- und Kaninchen-Shiga-Kruse- und Flexner-Seris arbeitete und als Antigen drei verschiedene Dysenteriestämme benutzte: Bacillus Shiga-Kruse, Bacillus Flexner und Bacillus Y. Dabei bekam er gewisse quantitative Differenzen, und zwar war die Gruppenreaktion beim Eselserum stärker als beim Kaninchenserum, doch kommt er schließlich auf Grund seiner Versuche zur Einsicht, daß die Komplementbindungsreaktion sich nicht zur Differenzierung der verschiedenen Dysenteriebacillen eignet, und daß ihre Spezifizität überhaupt hinter den anderen Immunitätsreaktionen zurücksteht.

Die Endergebnisse der von Amako und Kojima (4) mit Kaninchenseris angestellten Versuche scheinen vollkommen Shigas Klassifikation der Dysenteriebacillen in fünf Typen oder Varietäten zu bestätigen; sie weisen zwar eine starke Gruppenreaktion auf, doch sind die quantitativen Verhältnisse ziemlich verschieden und zeigen, wie bei Amakos Agglutinations- und Bakteriolyseversuchen, einen allmählichen Uebergang von der ersten bis zur fünften Varietät.

Zu ganz entgegengesetzten Resultaten kam Grigliewitsch (5), der gar keine Gruppenreaktion bei seinen Versuchen beobachten konnte. Die Hemmung der Hämolyse konnte beim Shiga-Kruse-Serum nur mit Shiga-Kruse-Stämmen und bei jedem Flexner-Serum nur mit dem homologen und ihm nahestehenden Flexner-Stämmen, aber lange nicht mit allen geprüften Flexner-Bacillen erzielt werden. Daraus folgert Grigliewitsch auf die Identität aller Shiga-Kruse-Stämme und die Vielverschiedenartigkeit der Flexner-Kulturen, die er für gänzlich artverschieden von den Shiga-Kruse-Bacillen hält.

II.

Die von mir bei den nächstfolgenden Versuchen benutzten Kaninchensera wurden durch 2—3malige intravenöse Injektion lebender Dysenteriebacillen gewonnen, da Kontrollversuche zeigten, daß nach einmaliger Injektion, wie es Amako und Kojima verlangen, das betreffende Serum nur eine äußerst schwache Wirkung aufzuweisen hat und schon in Verdünnung von 1 : 10 auch mit der homologen Kultur keine Hemmung der Hämolyse zu bewirken imstande ist.

Die bakteriellen Antigene aus meinen Dysenteriekulturen wurden mit Antiformin nach Altmann und Schultz's Vorschrift bereitet, nur daß ich anstatt 4-proz. Antiformin eine $4^1/_2$-proz. Antiforminlösung benutzte, da mit der 4-proz. Lösung nicht immer wasserklare Lösungen zu erzielen waren; vielmehr blieb dabei mit den meisten Kulturen eine leichte Trübung im Reagensglas bestehen, die sich nach einiger Zeit als kleiner Niederschlag zu Boden senkte und unter dem Mikroskop als Bakterien und Bakterienreste erwies.

Das hämolytische Serum (Titer 1:1000) wurde in dreifacher Verdünnung benutzt. Die Hammelblutkörperchen wurden in üblicher Weise abgewaschen und auf 1:19 verdünnt. Als Komplement benutzte ich frisches Meerschweinchenserum (1 : 10).

Bevor ich die Hauptversuche anstellte, prüfte ich alle Antiformin-Antigene auf ihre hämolysehemmende Wirkung, und konnte mich dabei überzeugen, daß sämtliche Antigene in der Dosis von 1,0 ccm eine recht starke und in der Dosis von 0,5 ccm eine nur schwache komplementablenkende Wirkung ausübten. Die maximale, Hämolyse nicht hemmende Dosis sämtlicher Antigene war 0,4 ccm und wurden somit bei

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Hauptversuchen immer nur 0,2 ccm der ursprünglichen Antiforminlösung angewandt. Was die Kaninchenimmunsera anbetrifft, so wiesen dieselben, wie diesbezügliche Kontrollversuche zeigten, in der Verdünnung 1:10 keine hämolysehemmende Wirkung auf; kleinere Verdünnungen wurden bei den Versuchen überhaupt nicht angewendet.

Die Hauptversuche wurden mit vier Immunseris, und zwar dem Shiga-Kruse-Serum No. 72[1]) und drei Flexner-Seris: No. 52 = 2. Typus, No. 45 = 3. Typus und No. 57 = 4. Typus angestellt, und wurde jedes mit 19 Flexner-Kulturen und 7 Shiga-Kruse-Stämmen geprüft.

Bei den in üblicher Weise angestellten Versuchen wurden fallende Mengen des Immunserums genommen: 0,1, 0,03, 0,01 etc., die Menge des Antigens war in allen Versuchen dieselbe — 1,0 ccm einer 20-proz. Lösung meines ursprünglichen Antiformin-Antigens. Die üblichen Kontrollen wurden regelmäßig vorgenommen.

Die Resultate der Versuche sind aus der Tabelle zu ersehen, wo die Endverdünnungen aufgezeichnet sind, mit denen noch eine deutliche Hemmung der Hämolyse zu merken war. Wie aus der Tabelle zu ersehen, scheint die Gruppenreaktion bei den Komplementablenkungsversuchen stärker ausgeprägt zu sein, als bei den Agglutinations- und Bakteriolyseversuchen.

Tabelle.

Komplementablenkungsversuche.

Geprüfte Stämme		Immunsera			
Typus	No. der Kultur	1. Typus (Shiga-Kruse)	2. Typus	3. Typus	4. Typus
1. Typus (Shiga-Kruse)	55	0,01	—	—	—
	56	0,01	—	0,03	0,1
	60	0,01 ±	—	—	—
	66	0,01	—	0,03	0,1
	67	0,01	—	—	—
	72	0,01	—	0,03 ±	0,1
	73	0,01	—	—	—
2. Typus	3	—	0,01	0,03	—
	4	—	0,01	0,01	0,03
	8	0,03	0,01	0,01	0,1
	17	0,1	0,01	0,01	—
	19	0,03 ±	0,01	0.03	0,1
	39	0,03	0,003	0,01	0,03
	46	—	0,01	0,03	0,1
	52	0,03	0,01	0,03	—
	58	0,01	0,01	0,01	0,03
	59	0,03	0,01	0,01	0,03
3. Typ.	45	0,03	0,01	0,003	0,1
4. Typus	6	0,01	0,1	—	0,03
	10	0,1 ±	0,1	—	—
	12	0,01 ±	—	—	0.0003
	13	0,01	0,03	0,1	0,1
	20	—	0,1	—	0,1
	42	0,01	—	—	0,003
	57	0,03	—	0,03	0,01
	61	0,01	0,01	0,003	0,03

1) Die Serumnummer entspricht der Nummer der Kultur, mit der das betreffende Kaninchen immunisiert und die Nummer des Antigens der Kultur, aus der es gewonnen wurde.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Shiga-Kruse-Serum, das mit allen Shiga-Kruse-Kulturen die Hämolyse bei Verdünnung von 1:100 hemmt, entfaltet dieselbe Wirkung, und zwar in derselben Verdünnung auf die Flexner-Stämme No. 58 (2. Typus) und No. 6, 13, 42 und 61 (4. Typus). In etwas stärkerer Konzentration — 1:33 — hemmt das Serum die Hämolyse auch mit allen übrigen Stämmen des 4. Typus, mit Stamm No. 45 (3. Typus) und mit den meisten Kulturen des 2. Typus.

Von den drei geprüften Flexner-Seris bleibt nur das Serum des 2. Typus ganz wirkungslos bei der Prüfung mit den Shiga-Kruse-Antigenen; die Flexner-Sera des 3. und 4. Typus entfalten dagegen eine deutliche, wenn auch verhältnismäßig schwache hämolysehemmende Wirkung auf einige, und zwar beide Seris auf dieselben Shiga-Kruse-Stämme.

Bei dem Flexner-Serum No. 52 (2. Typus) ist das Resultat mit den Shiga-Kruse-Kulturen in allen Fällen negativ. Mit den Kulturen des eigenen 2. Typus, sowie mit der Kultur des 3. Typus wird die Hämolyse in allen Fällen noch in Verdünnung 1:100 gehemmt; in schwächerer Verdünnung wirkt das Serum hämolysehemmend auch mit den meisten Kulturen des 4. Typus, und nur mit drei Stämmen des letzteren Typus (No. 12, 42 und 57) ist das Resultat negativ. Das Serum des dritten Typus hemmt, wie gesagt, die Hämolyse mit einigen, aber nicht mit allen Shiga-Kruse-Kulturen in Verdünnung 1:33. Eine viel stärkere Wirkung entfaltet dieses Serum im Versuche mit der homologen Kultur des 3. Typus und mit einigen Stämmen des 2. Typus. Von allen geprüften Seris wirkt am schwächsten das Serum des 3. Typus mit den Stämmen des 4. Typus; mit fünf Kulturen dieses Typus ist das Resultat gänzlich negativ und nur mit den Stämmen No. 13, 57 und 61 wird die Hämolyse gehemmt, mit dem letzten Stamm No. 61 allerdings in derselben Verdünnung wie mit der homologen Kultur.

Das Serum des 4. Typus hat auf die Shiga-Kruse-Stämme dieselbe Wirkung, wie das eben besprochene Serum aufzuweisen. Auch hemmt es mit den meisten Kulturen des 2. und 3. Typus die Hämolyse, und zwar nur in etwas stärkerer Konzentration als im Versuch mit der homologen Kultur No. 57.

Mit den Kulturen des eigenen 4. Typus ist das Resultat in allen Fällen, Stamm No. 10 ausgenommen, positiv, und zwar mit den Stämmen No. 12 und 42 sogar in stärkeren Verdünnungen als mit der homologen Kultur No. 57.

Angesichts solch starker Gruppenreaktion wäre es doch unserer Meinung nach verfrüht, daraus einen endgültigen Schluß über die Unbrauchbarkeit der Komplementablenkungsmethode zur Differenzierung der nahe verwandten Bacillenarten resp. der verschiedenen Dysenteriestämme ziehen zu wollen, um so mehr, als wir schon nach unseren früheren Agglutinations-, Bakteriolyse- und Fermentierungsversuchen von der Artverschiedenheit der Dysenterievarietäten durchaus nicht überzeugt sind, vielmehr die Ansicht der nahen biologischen Verwandtschaft aller dieser Stämme hegen. Unsere Komplementablenkungsversuche scheinen diesen Standpunkt im höchsten Maße zu unterstützen, und zwar möchten wir den Hauptwert auf die Resultate der Versuche mit den Flexner-Seris des 3. und 4. Typus und den Shiga-Kruse-Stämmen legen.

Wäre die hämolysehemmende Wirkung dieser beiden Sera mit den Shiga-Kruse-Stämmen No. 56, 66 und 72 nur durch die stark aus-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

geprägte Gruppenwirkung und den Mangel an Spezifizität der Methode bedingt, so würde es schwer zu erklären sein, warum sich diese Wirkung nicht auf alle Shiga-Kruse-Kulturen, sondern nur auf einige, und zwar bei den beiden Seris auf dieselben Stämme entfaltet, da den übrigen Immunitätsreaktionen nach zu urteilen ja alle Shiga-Kruse-Stämme vollkommen identisch zu sein scheinen. Hier bei den Komplementablenkungsversuchen tritt aber zum erstenmal die individuelle Verschiedenartigkeit auch mancher Shiga-Kruse-Kulturen zutage, von denen einige sich in beiden Fällen bei diesbezüglichen Versuchen negativ, andere wiederum positiv verhalten und hiermit eine nähere Verwandtschaft mit den Flexner-Stämmen dokumentieren.

Es scheint, als ob wirklich, wie schon von manchen Autoren angedeutet wurde, die Empfindlichkeit der Komplementablenkungsmethode eine recht hohe wäre, so daß sie gemeinsame Partialrezeptoren der Bakterienarten in feinerer Weise aufzudecken vermag, als andere Immunitätsreaktionen.

Dafür spricht auch das Resultat der Versuche mit den Stämmen des 4. Typus. Wie an entsprechender Stelle auseinandergesetzt wurde, haben alle diese Stämme sehr wenige gemeinsame agglutinogene und bakteriolytische Rezeptoren aufzuweisen.

Wenn das positive Resultat der Komplementablenkungsversuche mit diesen Stämmen nur an der Unspezifizität der Methode läge, so müßten die Versuche, wenigstens bei jedem einzelnen Serum, für verschiedene Kulturen des 4. Typus einheitlicher ausfallen; aus der Tabelle ist aber im Gegenteil zu ersehen, daß die Resultate mit jeder einzelnen Kultur recht verschieden sind — von vollständiger Hämolyse bis zur starken Hemmung bei verschieden großen Serumverdünnungen. Dies kann auch nur durch die größere Empfindlichkeit der Methode erklärlich werden. Somit scheinen uns die mitgeteilten Versuche einen weiteren Beweis für die Auffassung der Dysenteriebacillenvarietäten als einer gemeinsamen Bacillengruppe zu liefern.

Literatur.

1) Lunz, R., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. p. 28.
2) Dopter, Les dysenteries. Paris 1910.
3) Haendel, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 28. p. 358.
4) Amako u. Kojima, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 3. H. 5.
5) Grigliewitsch, Dissert. St. Petersburg. 1909. [Russisch.]

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen über neuere Färbungsmethoden der Tuberkelbacillen, nebst einem Beitrag zur Morphologie dieser Mikroorganismen.

[Aus dem Institute zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern. Direktor: Prof. Dr. W. Kolle.]

Von Dr. **S. Rosenblat.**

I. Strukturelle Verhältnisse der Tuberkelbacillen.

Nicht nur aus wissenschaftlichem, sondern auch aus rein praktischem Interesse ist das Studium der Morphologie und somit eine genaue morphologische Kenntnis der Tuberkelbacillen in allen Entwickelungsstadien von größter Bedeutung.

Eine der wichtigsten Fragen, die wir uns bei der morphologischen Untersuchung von Mikroorganismen stellen müssen, ist diejenige nach der Fortpflanzungsform. Neben anderen Merkmalen ist es ja hauptsächlich die Fortpflanzungsform, die uns ermöglicht, die Eigenart des betreffenden Mikroorganismus, seine richtige Stellung im System unter den ihm nächst verwandten Arten zu erkennen. Auch vom hygienisch-medizinischen Standpunkte aus ist die genaue Kenntnis der Art der Fortpflanzung von nicht geringem Werte. Deshalb ist die Frage, und insbesondere, ob die Tuberkelbacillen Dauerformen bilden oder nicht, immer wieder diskutiert worden.

Zuerst hat sich R. Koch in seiner Arbeit über die „Aetiologie der Tuberkulose" für die Existenz der Sporen ausgesprochen. Aehnlich den sporoiden Milzbrandstäbchen sollte der Tuberkelbacillus nach der Färbung einen zusammenhängenden Faden darstellen, durch helle eiförmige Räume unterbrochen. Da diese Gebilde in ungefärbtem Zustande stark lichtbrechend sind, „müssen sie demnach echte Sporen sein". Auf Grund biologischer Versuche hat Koch später allerdings diese Anschauung aufgegeben.

Metschnikoff betrachtet die sich intensiv färbenden und schwer entfärbenden Körner des Tuberkelbacillus als Sporen oder „kernartige Reservestoffe".

F. Fischel, der diese Gebilde in den birnförmigen Verdickungen der Stäbchen liegen sah, faßt sie als Gonidien auf.

Coppen Jones nennt sie Sporen, „ohne damit ihre morphologische Gleichwertigkeit mit den Endosporen der eigentlichen Bacillen zu behaupten". Er beschreibt sie als Gebilde, deren Größe sowohl die Entfernung voneinander sehr verschieden ist, und die unregelmäßig im Bacillus angeordnet sind. Durch seine Untersuchungen hat er festgestellt, daß diese „Sporen" sehr widerstandsfähig gegen Säuren sind. Ferner behauptet er, daß es eben diejenigen sporenhaltigen Bacillen sind, welche den größten Widerstand gegen Eintrocknung zeigen. Er unterscheidet die Sporen in langen Stäbchen, welche im Sputum vorkommen, und diejenigen in kurzen Stäbchen. Die ersten sind größer und von ovaler Form. Sie sind meistens scharf konturiert und stark lichtbrechend. Es gibt aber, seiner Meinung nach, fast in allen Stäbchen noch andere

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Körner, die sich weniger intensiv färben, keinen scharfen Rand besitzen und geringere Resistenz gegen Säuren zeigen. Diese Körner hält Coppen Jones für Uebergänge zum gewöhnlichen Protoplasma der Bacillen, also sozusagen für Vorstufen der ausgebildeten Dauerformen. Dagegen sieht Baumgarten diese Zusammenballung der sich intensiv färbenden Substanz im Stäbchen als Degenerationszeichen, als Zerfallserscheinung an; jedoch gibt er zu, daß diese Erscheinung zugleich mit der Sporenbildung zusammenfallen kann.

In einer früheren Arbeit: „Ueber Splittersputa Tuberkulöser" spricht Spengler von sogenannten „Splittern" der Tuberkelbacilllen oder Körnchen, die nicht mehr den Stäbchenverband aufweisen. Diese Splitter sind seiner Meinung nach Involutionsformen der Tuberkelbacillen mit erheblich herabgesetzter Lebens- und Entwickelungsfähigkeit und dementsprechend geringerer Virulenz. Nach weiteren Untersuchungen über die Unterschiede zwischen den Erregern der Rinder- und Menschentuberkulose gibt er folgendes an: Die ersten führen die von ihm als „Splitter" bezeichneten sporoiden Körper in ihrem Innern in der gleichen Anordnung, wie die Milzbrandbacillen ihre Sporen. Er erwähnt dabei, daß es ihm gelungen ist, für diese Splitter den Sporencharakter nachzuweisen. Dagegen zeigt der Tuberkelbacillus des Typus humanus diese Splitteranordnung nicht. Bei ihm reihen sich die sporenähnlichen Körner zu einem Stäbchenverband aneinander.

Sander beobachtete in einer Reihe von Kartoffel- und Rettigkulturen bei einigen Bakterien kugelige Einlagerungen, die zumeist nahe den freien Enden lagen, manchmal auch im Verlauf des Fadens. Dieselben Gebilde sah er in älteren Kulturen auch im hängenden Tropfen. Ihrer Färbbarkeit wegen sieht der Verfasser diese Gebilde als Vorstadium der Sporenbildung vor der Fertigstellung der resistenten Membran an.

Wladimiroff hält die sporenartigen Gebilde im Innern der Tuberkelbacillen nicht für Dauerformen, weil sie „nicht diejenige Widerstandskraft gegenüber chemischen und physikalischen Einwirkungen, besonders aber gegenüber hohen Temperaturen aufweisen, welche die echten Bakteriensporen charakterisiert".

Desgleichen bestreiten auch Günther und Preisz die Sporennatur dieser Gebilde.

In den letzten Jahren wurde die Frage der Sporenbildung bei den Tuberkelbacillen wieder aufgeworfen, nachdem Much ein Färbeverfahren, eine Modifikation der Gramschen Methode, zur Darstellung der sogenannten Granula, welche sich nach Much mittels der Ziehlschen Methode nicht färben lassen sollen, angab.

Seine Untersuchungen haben ihn zu folgenden Resultaten geführt. Es gibt zwei Formen der Tuberkelbacillen:

1) eine Stäbchenform, die sich ebensogut nach Ziehl wie nach Gram darstellen läßt, und

2) eine sogenannte granuläre Form, die nur mit Hilfe der modifizierten Gram-Methode nachzuweisen ist.

Die Körnchen können vereinzelt oder nebeneinander liegend, wie zur Stäbchenform geordnet oder Häufchen bildend, vorkommen. Die Granula sind kleine runde Gebilde, die sich nach der Muchschen Methode dunkelviolett bis schwarz färben und bei starker Entfärbung etwas lichtbrechend erscheinen. Sie sind den feinsten Kokken ähnlich,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nur viel kleiner als diese. Ihre Größe ist verschieden. Durch eine Reihe von Züchtungsversuchen behauptete Much, den allmählichen Uebergang der grampositiven granulären Form in die sich nach Ziehl färbbaren säurefesten Stäbchen feststellen zu können.

Ferner führte Much Tierversuche aus, um seine Theorie zu stützen. Ein Meerschweinchen, das mit einer Reinkultur, in der nur noch Granula zu finden waren, geimpft worden war, zeigte bei der Sektion eine Milz- und Lungentuberkulose, und ein wurstförmig verdicktes Netz mit vielen nach Ziehl färbbaren Tuberkelbacillen.

Auf Grund dieser Versuche kommt Much zu der Annahme, daß die Granula eine Uebergangsform zu den Stäbchen darstellen, also eine Entwickelungsform des Tuberkelbacillus sind.

Die Versuche von Much sind von verschiedenen Forschern nachgeprüft und bestätigt worden. Aber andere Arbeiten haben Much auch widerlegt.

v. Betegh sagt, daß die von Much als Granula genannten und von Spengler als Splitter bezeichneten Gebilde mit den von ihm mittelst der Tolinmethode gefärbten Perlsuchtbacillensporen vollkommen identisch sind. Er behauptet auch, daß aus diesen vegetativen Formen kleine, zarte, meistens gerade Stäbchen auswachsen, die noch nicht ganz säurefest sind. Erst nach weiterer Entwickelung werden sie säurefest und lassen sich homogen färben. Bei weiterer Entwickelung der Bacillen bilden sich in ihrem Innern Sporen aus, die von der Hülle des Stäbchens umgeben sind. Nachdem der Bacillus ganz reif wird, färbt sich seine Wachshülle nicht mehr, und die Sporen erscheinen dann in einer farblosen Hülle.

Ferner behauptet Wirths, daß die Granula kein Zerfallsprodukt darstellen, sondern „eine virulente Entwickelungsform, und zwar die resistenteste aller bisher bekannten Formen des Kochschen Tuberkelbacillus, sowohl des Typus humanus, wie des Typus bovinus".

Zu gleichen Resultaten kommen Fontes und Caan bei ihren Färbungsversuchen, wobei der letzte auch die Muchschen Granula von den Spenglerschen Splittern unterscheidet, denn die Splitter besitzen keine Säurefestigkeit im Gegensatz zu den Granula.

Auch Gasis will mittelst seiner Färbungsmethode Gebilde, die er mit den Muchschen Granula für identisch hält, gesehen haben.

II. Chemische Zusammensetzung und die damit zusammenhängende spezifische Färbbarkeit der Tuberkelbacillen.

Außer dem Eiweiß, dem Lebensträger jeder Zelle und den eiweißähnlichen Körpern, den Proteinen und den eiweißähnlichen Toxinen, besteht der Tuberkelbacillus zum großen Teil aus einem Gemisch von fettartigen Substanzen, die ihm seine Säurefestigkeit wie das Verhalten gegenüber den Farbstoffen verleihen.

Das schon von Koch entdeckte färberische Verhalten der Tuberkelbacillen konnte von ihm nicht zuverlässig erklärt werden. Seiner Meinung nach ist der Tuberkelbacillus von einer Hüllsubstanz umgeben, welche sich tinktoriell verschieden von der Inhaltsmasse verhält. Dafür spricht schon das verschiedene Aussehen der Tuberkelbacillen, je nachdem sie mit Methylenblau oder mit Fuchsin gefärbt sind; die ersten erscheinen immer dünner. Auch das Zusammenkleben der Bacillen in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Kulturen beweist, daß sie von einer wachsartigen Substanz umgeben sind. Diese Wachshülle ist es, welche die Farbstoffe in den Leib des Bacillus durchdringen läßt und sie dann zurückhält, dagegen aber für Säuren mehr oder weniger undurchlässig ist. Ebenso nahm Ehrlich an, daß die Säurefestigkeit auf der Undurchlässigkeit der Membran für Säuren beruht. Neben dieser rein physikalischen Theorie stellt er gleichzeitig eine chemische auf, indem er annimmt, daß

1) die Beize die Fetthülle der Bacillen durchlässig macht,

2) daß stärkere Säuren nur langsam die Hülle zu durchdringen vermögen, und

3) daß unter dem Einflusse von Säuren die Hülle für größere Moleküle undurchlässig wird.

Seitdem aber Ziehl nachgewiesen hat, daß die Salpetersäure in das Innere der Bacillen eindringt, ist die Annahme, daß die wachsartige Hülle die Säurefestigkeit bedingt, wieder von manchen Seiten fallen gelassen worden.

Bienstock nimmt ebenfalls eine die Bacillen umschließende Fetthülle an, welche die Entfärbung der Bakterien verhindert.

Auch Unna stellte eine chemische Theorie für die Färbbarkeit der Tuberkelbacillen auf, indem er sagte, daß unter dem Einflusse von Beizen eine so feste Verbindung des Bacillenleibes mit dem Farbstoffe erfolgt, daß sich der Bacillus nachher schwer entfärben läßt. — Spätere Forscher schreiben die Ursache der Säurefestigkeit der Tuberkelbacillen vielmehr einem bestimmten fettartigen Stoffe zu, welcher im Bakterienprotoplasma selbst enthalten ist. Die Tuberkelbacillen bestehen beinahe zu 40 Proz. aus dieser fettartigen Substanz, welche charakteristisch für diese Lebewesen ist, und durch welche sie sich von allen anderen Mikroorganismen, mit Ausnahme der Gruppe der säurefesten Bakterien, unterscheiden.

Der erste, der auf diese Tatsache hinwies, war Hammerschlag. Durchschnittlich isolierte er 27 Proz. in Alkohol und Aether lösliche Substanzen aus den Bacillen. Klebs konnte ca. 22 Proz. dieser fettigen Substanzen in den Tuberkelbacillen nachweisen. Das reine ätherische Extrakt stellt ein festes rotes Fett dar, welches bei 42° C schmilzt und 20,5 Proz. der Gesamtmasse ausmacht. Ein zweiter Bestandteil, der etwa 1,2 Proz. der Gesamtmasse darstellt, ist ein festes weißes Fett, welches in Aether unlöslich ist, sich aber durch Benzol extrahieren läßt.

Diesen fettartigen Substanzen schreibt Klebs die spezifische Färbbarkeit der Tuberkelbacillen in Karbolfuchsin und die Säurefestigkeit dieser Färbung zu. Er konnte beweisen, daß das extrahierte Fett genau dieselbe Reaktion gibt, wie die Tuberkelbacillen selbst, und daß ferner die fettfreien Tuberkelbacillen ihr charakteristisches Färbevermögen eingebüßt haben.

Zu ähnlichen Resultaten gelangte auch Weyl, als er das aus dem Bacillenkörper isolierte Fett in derselben Weise färben konnte und die Säurefestigkeit der Färbung nachwies, wie bei den Bacillen selbst.

Aronson betrachtet die bisher als Fett bezeichnete, mit Aether extrahierbare Substanz der Tuberkelbacillen als ein echtes Wachs. Dieses Wachs ist sehr widerstandsfähig gegenüber salzsaurem Alkohol und behält lange die Färbung. Das Tuberkelwachs ist ein Sekretionsprodukt, welches hauptsächlich zwischen den Leibern der Bacillen liegt. Die Ansicht von Aronson wird von Helbing bestritten. Er spricht

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Vermutung aus, daß die Säurefestigkeit der Tuberkelbacillen durch ihren Gehalt an chitinähnlichen Körpern bedingt ist. Ebenfalls bestreitet Klein die Anwesenheit einer Fetthülle bei den Tuberkelbacillen. Da er beobachtet hatte, daß junge Glyzerinagarkulturen viel weniger säurefest waren als ältere, so schloß er daraus, daß der säureschwache Charakter der Tuberkelbacillen vielmehr der abgeschwächten Virulenz zuzuschreiben ist.

Mehrere Forscher stehen auf einem ganz anderen Standpunkte, indem sie die Säurefestigkeit der Tuberkelbacillen durch rein physikalische Eigenschaften dieser Bakterien erklären wollen. Grimme stellte eine große Reihe von Versuchen zur Erforschung dieser Frage an, die ihn zu folgendem Schlusse führten:

Die Säurefestigkeit der Tuberkelbacillen beruht wahrscheinlich auf der Anwesenheit eines besonderen Stoffes im Cytoplasma der Bakterien. Dieser Stoff kann kein Fett sein, denn er löst sich in Salzsäure. Ebenso ist er kein Eiweißkörper, weil ihn gewisse Fermente nicht spalten. Dagegen besitzt der betreffende Stoff die Eigenschaft, sich in 80-proz. Alkohol, Aether, Xylol und $^1/_2$-proz. Salzsäure zu lösen.

Nach der Auffassung von Much besitzt der Tuberkelbacillus zwei färbbare Substanzen: Eine säureschwache und eine fettreiche säurefeste, die erste nach Gram, die andere nach Ziehl darstellbar. Indem der Bacillus in den tuberkulösen verkästen Organen des kranken Organismus seine Fettsubstanz verliert, wird er säureschwach und ist dann nur noch nach Gram färbbar. Wenn er aber in gesunde Körperstellen hineingelangt, so stellt er sein Fett wieder her und wird dann wieder nach Ziehl färbbar. Nach Wirths sind beide Substanzen nach Gram färbbar, aber nur die eine nach Ziehl. Während letztere unter gewissen Bedingungen verloren geht, bleibt nur noch die erste nach Gram färbbare Substanz zurück. Auch Weiss unterscheidet im Tuberkelbacillus zwei Substanzen: Eine nach Ziehl färbbare — eine Fettsäure, die wahrscheinlich das ganze Stäbchen durchtränkt; die andere nach Gram färbbare granuläre Form, die hauptsächlich aus Eiweiß aufgebaut ist. — Auf Grund seiner Färbungsmethode neigt Gasis der Meinung zu, daß die Säurefestigkeit der Tuberkelbacillen durch die in ihnen enthaltenen Eiweißkörper bedingt ist und nicht durch das Fett, da die Bakterien den Farbstoff beibehalten, trotzdem das Fett durch die alkalihaltige Flüssigkeit verseift wird.

III. Eigene Untersuchungen.

Das oben besprochene tinktorielle Verhalten der Tuberkelbacillen dient zu ihrem mikroskopischen Nachweise.

Die verschiedenen älteren Methoden sowie auch die bis jetzt am meisten gebrauchte Ziehl-Neelsensche Methode können nicht als vollständig befriedigend für differentialdiagnostische Zwecke betrachtet werden. Es gibt ja noch andere säurefeste Bakterien, deren morphologisches und biologisches Verhalten demjenigen des Tuberkelbacillus ähnlich ist. Ferner ist der Umstand, daß man in tuberkulösem Eiter von sogenannten kalten Abscessen oder in alten tuberkulös veränderten Organen und in den käsigen Massen tuberkulöser Drüsen und der zerfallenen Tuberkel häufig mikroskopisch keine säurefesten Tuberkelbacillen findet, während Impfung und Kulturversuche mit demselben Material positiv ausfallen, läßt vermuten, daß es vielleicht irgendeine

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Form des Tuberkelbacillus gibt, die nach der üblichen Ziehlschen Färbungsmethode nicht darstellbar ist. Alle diese Umstände haben viele Forscher dazu angeregt, nach neuen Färbungsmethoden zu fahnden, welche uns neue Formen des Tuberkelbacillus sichtbar machen könnten und welche ermöglichen würden, noch da Bacillen zu finden, wo man sie nach dem gewöhnlichen Verfahren nicht mehr antrifft.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich damit, einige der Färbemethoden, nämlich die nach Much modifizierte Gramsche Färbung und diejenige von Gasis angegebene, daraufhin zu prüfen, ob sie irgendwelche Vorteile vor dem Ziehl-Neelsenschen Verfahren zeigen. Erstens, in diagnostischer Hinsicht bezüglich leichterer Auffindung der Bacillen, und zweitens, ob mit ihrer Hilfe irgendwelche Formen der Tuberkelbacillen in Kulturen oder tuberkulösen Organen zu finden sind, die mit den bisher gebräuchlichen Färbemethoden nicht nachzuweisen sind. Ich suchte also folgende Fragen zu beantworten:

1) Ob diese Methoden irgendwelche strukturelle Verhältnisse der Tuberkelbacillen aufweisen, die man mit Hilfe der Ziehlschen Färbung nicht ermitteln kann.

2) Ob sie außer den nach Ziehl färbbaren Formen der Tuberkelbacillen noch andere, bisher unbekannte Entwickelungsstadien derselben uns sichtbar machen.

3) Welchen praktischen und differentialdiagnostischen Wert sie uns bieten.

Endlich versuchte ich durch Kombinieren zweier Färbungen, der von Ziehl und von Gram, die Struktur der Tuberkelbacillen zu studieren.

Bei meinen Untersuchungen benutzte ich folgendes Material:

1) Tuberkulöse Organe von Meerschweinchen und Kaninchen (Drüsen, Lunge, Leber, Niere, Milz) in direkten Ausstrichpräparaten.

2) Reinkulturen von Tuberkelbacillen auf Gehirnagar und in Glyzerinbouillon.

3) Reinkulturen von säurefesten Bacillen und Blindschleichentuberkulose.

4) Sputa — gewöhnliche und mit Antiformin behandelte.

Die Färbungsmethoden, die ich benutzte, waren folgende:

a) nach Ziehl-Neelsen;
b) Gram-Methode II (nach Much);
c) Färbung nach der Methode von Gasis;
d) die ursprüngliche Ehrlichsche Methode mit Anilinwassergentianaviolett.

Um möglichst Niederschläge zu vermeiden, wurde jede Farblösung vor dem Gebrauch filtriert. Die Färbung nach Ziehl-Neelsen kam in folgender Weise zur Anwendung. Die Präparate wurden mit Karbolfuchsin über der Flamme gefärbt und darauf mit verdünnter Salpetersäure (1 : 4) 10—30 Sekunden und 60-proz. Alkohol, bis kein Farbstoff mehr abgegeben wurde, entfärbt. Nach dem Abspülen mit Wasser fand die Nachfärbung mit verdünntem Loefflerschen Methylenblau statt.

Das Aufkochen der Farblösung über der Flamme suchte ich immer zu vermeiden, weil sich dabei fast ausnahmslos Niederschläge bilden.

Die von Much modifizierte Gram-Methode, die ich benutzte, war die sogenannte Gram-Methode II:

1) Methylviolett B. N., 10 ccm gesättigte alkoholische Lösung in 100 ccm 2-proz. Karbolwasser.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Lugolsche Lösung 10—12 Minuten.
3) 5-proz. Salpetersäure 1 Minute.
4) 3-proz. Salzsäure 10 Sekunden;
5) Acetonalkohol (āā).

Die Nachfärbung machte ich meist mit verdünntem Bismarckbraun, seltener mit einer stark verdünnten Safraninlösung. Oft wandte ich keine Kontrastfärbung an.

Die filtrierte Methylviolettlösung wurde in hohe zylindrische Farbgläser gefüllt und einige Tage sich selbst überlassen. Die Farbstoffniederschläge setzten sich dann am Boden und an den Wänden des Glases ab, so daß die später darin gefärbten Präparate fast frei von Niederschlägen waren. Die an der Luft getrockneten Ausstrichpräparate fixierte ich mehrere Minuten lang in Formolalkohol, trocknete sie nachher mit Fließpapier ab und ließ sie in der Farblösung 1—3 × 24 Stunden bei Zimmertemperatur liegen. Das Weitere geschah nach der oben angegebenen Vorschrift. Die Schnellfärbung, die nur 15—30 Minuten dauerte, wurde in folgender Weise vorgenommen:

Das in der Flamme fixierte Präparat übergoß ich mit der Farblösung, erwärmte über der Flamme, bis leichte Dämpfe emporstiegen, und ließ es dann die nötige Zeit stehen. Nach Abschütteln des Farbstoffes übergoß ich das Präparat mit Lugolscher Lösung für 3 bis 5 Minuten. Die Entfärbung geschah in 5-proz. Salpetersäure 10 bis 15 Sekunden, 3-proz. Salzsäure 5 Sekunden und Acetonalkohol.

Ich bekam auf diese Weise recht schöne Präparate, welche die gleichen Bilder aufwiesen wie diejenigen, die längere Zeit in der Farblösung blieben.

Bei der Färbung nach Gasis benutzte ich die zuerst von ihm angegebene Methode (A), dann die später von ihm modifizierte Methode (B).

Methode A.

1) Färben in 5 ccm einer 1-proz. Eosinlösung, die mit einem linsengroßen Stück Quecksilberchlorid bis zur völligen Lösung aufgekocht wurde.
2) Abspülen in Wasser.
3) Entfärben in einer Mischung von 0,5 Natriumhydrat, 1,0 Kaliumjodid, 100 (50-proz.) Alkohol, bis an Stelle der roten eine weiß-grüne Farbe auftritt.
4) Abspülen mit absolutem Alkohol.
5) Nachspülen mit Wasser.
6) Nachfärben mit Methylenblaulösung (1,0 kristallisiertes Methylenblau, 10,0 absoluter Alkohol, $^1/_2$ ccm Salzsäure, 90 ccm destilliertes Wasser) 2—3 Sekunden.

Die Farblösung wurde vor dem Gebrauch jedesmal frisch zubereitet und aufgekocht. In die warme Farblösung wurde das fixierte Präparat für 2—5 Minuten eingetaucht. Nach Abgießen des Farbstoffes kam das Präparat nacheinander in die betreffenden Entfärbungsflüssigkeiten.

Methode B.

Die Farblösung wird auf folgende Weise zubereitet: 3 g kristallisiertes Quecksilberchlorid werden in 100 ccm destilliertem Wasser, welches 5 ccm absoluten Alkohol enthält, unter Erhitzen aufgelöst; zu der Lösung wird 1 ccm Zedernöl zugesetzt, worauf ein nochmaliges Aufkochen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

folgt. Die so erhaltene dicke, milchartige Flüssigkeit wird im warmen Zustande abfiltriert. In einem anderen Glase löst man 1 g kristallisiertes Eosin in einigen Kubikzentimetern destilliertem Wasser und bringt dann diese beiden Lösungen zusammen. Dieses abgekühlte Gemisch wird filtriert, 24 Stunden stehen gelassen, dann wieder abfiltriert.

Färbung.

1) Uebergießen des Präparates mit der Farblösung und Erwärmen über der Flamme.

2) Entfärben in einer Mischung von 1,0 Natriumhydrat, 0,5 Kaliumjodid, 100 ccm (50-proz.) Alkohol, bis die rote Farbe durch eine tiefgrüne ersetzt wird.

3) Abspülen mit 90-proz. Alkohol.

4) Abspülen mit destilliertem Wasser.

5) Nachfärben 2—3 Sekunden mit einer Methylenblaulösung (0,1 Methylenblau, 80 ccm destilliertes Wasser, 20 ccm absoluter Alkohol, 1 ccm Salzsäure).

Das fixierte Präparat wurde mit der vorher gut umgeschüttelten Eosinlösung übergossen, über der Flamme erhitzt und 5—15 Minuten sich selbst überlassen. Die Entfärbung geschah wie bei der Methode A.

Ich konnte die Beobachtung machen, daß man mit der modifizierten Methode von Gasis viel schlechter gefärbte Präparate erhält, als mit der ursprünglichen. Die Bacillen erscheinen blaßrot und matt gefärbt, so daß sie nicht leicht aufzufinden sind.

Die Präparate wurden immer in gleicher Zahl für jede Färbungsmethode angefertigt, und in jedem Präparate wurden mindestens 30 bis 40 Gesichtsfelder durchgemustert. Von dem betreffenden Material wurde auf dem gereinigten Objektträger oder Deckgläschen ein möglichst gleichmäßig dünner Abstrich gemacht. Wenn es sich um tierisches Material handelte, wurde der Abstrich auf Parallelpräparaten immer aus ein und derselben Stelle des betreffenden Organs gemacht. Bei Anfertigung von Präparaten aus Reinkulturen entnahm ich mit der Platinöse etwas Material, zerrieb es fein in Wasser oder Kochsalzlösung auf einem Objektträger. Die so zubereitete Aufschwemmung, der immer noch andere Bakterien, wie z. B. Paratyphus- oder Milzbrandbacillen zugesetzt wurden, damit die Tuberkelbacillen sich von dem nachgefärbten Grunde besser abheben, verteilte ich gleichmäßig für mehrere Präparatausstriche.

Aehnlich wurde bei Sputumuntersuchungen verfahren, indem ein aus der Gesamtmasse herausgehobener Flocken auf sämtlichen Objektträgern zerrieben wurde.

Bei Anwendung von Sputum, das mit Antiformin vorbehandelt worden war, wurde das Material für die Ausstriche aus dem Bodensedimente mittels einer Kapillare entnommen und auf sämtliche Objektträger verteilt.

Trotzdem ich mir so die größte Mühe gegeben hatte, das zu untersuchende Material möglichst gleichmäßig auf die Parallelpräparate zu verteilen, schien es mir doch sicherer, zum Vergleich zweier verschiedener Färbungsmethoden, ein und dasselbe Präparat vorher nach der einen, dann nach der anderen zu färben, da die Ausstriche sogar aus ein und derselben Stelle des betreffenden Materials ihrem Bacillengehalte nach sehr verschieden sein können.

Bei diesen Umfärbungen bin ich, wie folgt, vorgegangen:

Das schon einmal nach der einen Methode, z. B. nach Ziehl, gefärbte und besichtigte Präparat färbte ich nochmals nach Gram um

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und zwar ganz in derselben Weise, wie wenn das betreffende Präparat noch gar nicht gefärbt gewesen wäre.

Ergänzt wurden meine Untersuchungen dadurch, daß ich zum Vergleich noch andere säurefeste Bakterien parallel nach Ziehl und der Gram-Methode II färbte, nämlich Blindschleichentuberkulose und Smegmabacillen.

IV. Vergleich der Färbungsmethoden nach Ziehl-Neelsen, nach Much und nach Gasis.

Bei dem Vergleich der oben genannten Färbungsmethoden will ich der Reihe nach alle diejenigen Punkte besprechen, die ich bei meinen Untersuchungen berücksichtigt hatte.

a) Strukturelle Verhältnisse.

In den Ziehl-Präparaten zeigen die Tuberkelbacillen immer ihr typisches Aussehen. Sie sind nicht immer ganz gerade gestreckt, sondern erscheinen vielfach schwach gebogen. Die Stäbchen sind gewöhnlich homogen gefärbt. Bei den älteren Formen in Reinkulturen, besonders in Präparaten aus Sputum, sowie auch aus tuberkulösen Organen von Tieren, die nach längerer Zeit nach der Infektion eingegangen sind, sehen wir die Stäbchen meist in 2—3 Stücke oder in Körnchen, die unregelmäßig zu Häufchen liegen, zerfallen. Hier und da sieht man ein granuliertes Stäbchen, welches aus 3—4 Körnchen besteht. Oefters besitzen die Stäbchen an je einem Ende oder in der Mitte ein intensiv dunkel gefärbtes Granulum.

Allgemein ist das Bild immer sehr übersichtlich, denn die intensiv rot gefärbten Tuberkelbacillen heben sich recht schön von dem blauen Untergrund ab.

Bei der Anwendung der von Gasis angegebenen Färbungsmethode A bekommt man Bilder, die denjenigen nach Ziehl ähnlich sind. Die Stäbchen sind glänzend, hellrot gefärbt und treten ziemlich deutlich hervor auf dem blauen Untergrund. Im Innern der Stäbchen sieht man auch die dunkler rot gefärbten Körnchen, getrennt von stark lichtbrechenden kugeligen Gebilden, welche Gasis als Sporen betrachtet. Einen Nachteil hat diese Färbung, weil man hin und wieder Niederschläge von Quecksilber bekommt, die bei der Betrachtung des Präparates sich unangenehm bemerkbar machen. Nach dem Verfahren B dagegen erhält man Präparate, die stark von Quecksilberniederschlägen verunreinigt sind; die Tuberkelbacillen erscheinen so blaß gefärbt, daß man sie überhaupt schlecht unterscheiden kann. Irgendwelche abweichenden Strukturverhältnisse der Bacillen, die mit der Ziehlschen Methode nicht nachweisbar wären, habe ich nicht beobachten können.

Die nach der Muchschen Gram-Methode II gefärbten Präparate, gleichgültig, ob sie 24 Stunden oder länger in kalter Farblösung bleiben, ergeben ganz andere Bilder als diejenigen nach Ziehl-Neelsen. Die Stäbchen sind meistenteils, oder besser gesagt, fast alle granuliert. Sie bestehen aus 2—7 Körnchen, deren Größe wechselnd ist. Auch der Abstand zwischen den einzelnen Körnchen eines Stäbchens variiert. Oft weisen die Körnchen eines Stäbchenverbandes ungleichen Farbenton auf. Während die einen dunkelviolett sind, erscheinen die anderen viel

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

heller, fast grauschwarz. Es sind kokkenähnliche Gebilde, nur viel kleiner. Besonders schön sind diese Formen in Sputumpräparaten, wo die Stäbchen manchmal aus 8—10 Granula bestehen. Ferner sieht man in solchen Präparaten neben den granulierten Stäbchen auch einzeln liegende Granula. Nur sehr selten sind die Stäbchen gleichmäßig gefärbt, d. h. nicht granuliert. Solche homogen gefärbten Stäbchen trifft man meist in jungen Kulturen, in älteren Kulturen sieht man dagegen neben den wenigen homogen gefärbten meistens granulierte Stäbchen.

Die homogen gefärbten Bacillen enthalten oft an je einem Ende ein Körnchen, welche sich deutlicher abheben, weil sie dunkler erscheinen, als der feine Leib des Stäbchens.

Ganz ähnliche Bilder bekommt man, wenn man das Präparat $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde lang mit der erwärmten Methylviolettlösung färbt. Bei den Umfärbungen wird das eine Bild vollständig durch das zweite ersetzt. Nur ausnahmsweise sieht man hin und wieder ein Stäbchen, welches die vorige Färbung beibehalten hat.

In vielen Fällen, wo ich bei der Untersuchung der Gramschen Präparate nicht sicher war, ob die granulierten Stäbchen wirklich Tuberkelbacillen darstellten, färbte ich das Präparat nach Ziehl um, und zwar in folgender Weise: Ich begoß das Präparat mit kaltem Karbolfuchsin und ließ es so 2—3 Minuten stehen, nachher entfärbte ich es in sehr verdünnter Salpetersäure oder in 1-proz. Salzsäure-Alkohol und 60-proz. Alkohol. Bei dieser Art von Umfärbung bekommt man gewöhnlich folgende Bilder: Die vorher ohne Zusammenhang liegenden Granula sind jetzt von einer rötlichen Hülle umgeben; die Stäbchen, die vorher homogen violett gefärbt waren, erscheinen jetzt mit einem roten Saum; einige Stäbchen und Granula sind violett gefärbt geblieben.

b) Bedeutung der Granula.

Ueber die Natur der sogenannten Muchschen Granula wurde in letzter Zeit viel gestritten. Wie oben erwähnt, hält sie Much und einige andere Autoren für eine virulente Entwickelungsform des Tuberkelbacillus. Viele Forscher sprechen sich aber dagegen aus und betrachten diese Form vielmehr als nicht entwickelungsfähige Zerfallsprodukte der Tuberkelbacillen. Die Erscheinung, daß sich die granuläre Form des Tuberkelbacillus nach Ziehl nicht darstellen läßt, kann man sich ungezwungen z. B. in folgender Weise erklären. Die Granula stellen die inneren protoplasmatischen Partieen des Bacillenleibes dar, die den analogen mit gewöhnlichen Anilinfarben färbbaren Teilen anderer nahestehender Bacillen, z. B. der Diphtherie- und Rotzbacillen, entsprechen. Nach Ziehl aber läßt sich außerdem die wachshaltige Membran der Tuberkelbacillen färben, und diese stark rot gleichmäßig gefärbte Hülle verdeckt den inneren Teil des Bacillus.

Die im kranken Organismus sich bildenden Abwehrstoffe vermögen vermutlich die Tuberkelbacillen gewissermaßen zu schädigen. Diese Schädigung besteht darin, daß die Bacillen ihre wachshaltige Membran einbüßen. Es bleibt dann mehr oder weniger der membranlose Plasmaleib des Bacillus frei, der vielfach nicht mehr völlig säurefest ist und deshalb sich jetzt nicht homogen färben läßt. Er erscheint jetzt als eine Reihe intensiv gefärbter Granula. Dieses tinktorielle Verhalten der Granula darf aber nicht berechtigen, sie deswegen als Uebergangs-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

form, Dauerform oder besondere Entwickelungsform der Tuberkelbacillen anzusehen. Vielmehr liegt die Ursache dieser Färbbarkeit darin, daß die Granula vielleicht chromatinhaltige Partieen des Protoplasmas darstellen.

Wahrscheinlich ist auch, daß unter günstigen Bedingungen diese membranlosen Tuberkelbacillen ihre wachshaltige Schutzhülle wieder aufbauen, und so gehen die säureschwachen granulierten Formen wieder in die stark säurefesten Stäbchen über. Der Umstand, daß die Granula weniger säurefest sind, als die Bacillen selber (bei längerer Einwirkung von Säuren entfärben sie sich), weist auch darauf hin, daß diese Gebilde wenig widerstandsfähig gegen chemische Einwirkungen sind, und dies widerspricht ja der Natur der echten Bakteriensporen. Bei meinen Untersuchungen konnte ich bezüglich der Granula folgendes feststellen:

1) Niemals sind in käsigen tuberkulösen Massen irgendwelche besonderen Formen der Tuberkelbacillen zu finden.

2) Die Tuberkelbacillen sind fast nie in den Zellen oder abgekapselten ausgeheilten Partieen in größerer Menge vorhanden.

3) Der Käse der zerfallenen Organe, in dem Granula auftreten, enthält auch Tuberkelbacillen.

4) Sind die Tuberkelbacillen spärlich, so sind auch die Granula spärlich.

Wenn wir den großen Wert des Fettwachses für die Tuberkelbacillen beachten, so sehen wir, daß es gar nicht nötig ist, für diese Mikroorganismen noch eine Dauerform anzunehmen, welche andere Bakterien bilden müssen, um ungünstige Lebensbedingungen überdauern zu können. Denn einerseits ist dieses Fettwachs sehr widerstandsfähig gegenüber den Verdauungssäften der Phagocyten im tierischen oder menschlichen Organismus, andererseits schützt es die Bacillen außerhalb des Organismus vor schneller Austrocknung, einer der größten Gefahren für ihr lebentragendes Protoplasma.

c) Praktischer Wert dieser Färbungsmethoden für den Nachweis und das Auffinden der Tuberkelbacillen.

Wenn meine eigenen Untersuchungen mich zu einem endgültigen Urteil über die praktische Verwertbarkeit der von mir geprüften Färbungsmethoden berechtigen, so würde ich der Färbung nach Gasis keinen bedeutenden praktischen Wert zuschreiben. Was den quantitativen Nachweis betrifft, so konnte ich in den nach dieser Methode gefärbten Präparaten nie mehr Bacillen, als in den Parallelpräparaten nach Ziehl oder Gram, finden. Im Gegenteil, es kommen immer viel weniger Bacillen zum Vorschein, besonders in Ausstrichen aus tierischen Organen. Und wo das Resultat nach Ziehl oder Gram negativ ausfiel, war es das gleiche nach der Färbungsmethode von Gasis. — Bei Untersuchungen von jüngeren Reinkulturen bekommt man Präparate, die den Ziehlschen ziemlich ähnlich sind, nur sind die Stäbchen viel blasser gefärbt, und das Bild nicht so klar und deutlich, wie dasjenige nach Ziehl. Die Tuberkelbacillen älterer Kulturen, die nach dem Verfahren von Ziehl noch ziemlich gut zum Vorschein kommen, entfärben sich sehr leicht bei dem Gasisschen Verfahren. Sie verlieren also ihre Alkalifestigkeit schon viel früher als die Säurefestigkeit.

Bei Untersuchungen von Sputum und tuberkulösen Organen, in denen Bakteriengemische vorkommen, ist diese Methode überhaupt unbrauchbar,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weil hier leicht Verwechslungen vorkommen können mit Diphtheriebacillen, Xerose und anderen. Außerdem ist der Kontrast zwischen dem Eosinfarbstoff und Methylenblau geringer, als zwischen Fuchsin und Methylenblau; deshalb ist auch das Aufsuchen der Tuberkelbacillen in den Präparaten nach Gasis viel schwerer als in den Ziehlschen. — Was die Urogenitaltuberkulose betrifft, ist folgendes zu bemerken. Bekanntlich ist hier die Differenzierung der Tuberkelbacillen überhaupt schwierig, weil im Harn noch andere säurefeste Bakterien vorkommen, wie z. B. Smegmabacillen, die man bei der Färbungsmethode von Gasis mit Tuberkelbacillen leicht verwechseln könnte. Ferner kommen die Tuberkelbacilen im Harn gewöhnlich in sehr geringer Zahl vor. Da aber nach dem Verfahren von Gasis überhaupt immer eine geringere Zahl von Bakterien zum Vorschein kommt, so gibt diese Methode jedenfalls weniger Chancen zum Auffinden von Tuberkelbacillen als die Ziehlsche.

Weitere Nachteile dieser Färbungsmethode sind noch folgende:

Verfährt man nach der Angabe A, so ist diese Färbung komplizierter und dauert länger, als die nach Ziehl, denn man muß jedesmal die Farblösung vor der Färbung frisch zubereiten und aufkochen. Auch die Entfärbung ist viel schwieriger; wenn sie nur ein wenig länger andauert, so kann unter Umständen der ganze Ausstrich fortgespült werden oder sich ganz entfärben. Verfährt man nach der Angabe B, so bekommt man, wie ich schon erwähnt habe, ganz schleche Präparate; die Farblösung hält dabei nur kurze Zeit.

Was die Gram-Methode II anbetrifft, so kann ich folgendes bemerken. Einen großen praktischen Wert könnte sie dann haben, wenn man mit ihr noch solche Formen der Bacillen zum Vorschein bringen könnte, welche, durch Degeneration geschädigt, mit der üblichen Methode nicht mehr färbbar sind; oder wenn es möglich wäre, mittelst dieser Methode noch da Tuberkelbacillen aufzufinden, wo man sie nach dem Ziehlschen Verfahren nicht mehr antrifft. Bei meinen Untersuchungen konnte ich weder das eine, noch das andere beobachten. In einzelnen Fällen habe ich zwar mit der Gramschen Färbung mehr Stäbchen aufgefunden, als mit der Ziehlschen, und in zwei Fällen sogar, wo die Ziehl-Präparate negativ ausfielen, wiesen die Parallelpräparate nach Gram vereinzelte Stäbchen auf. Aber auch umgekehrt ist es mir vorgekommen, daß die Gram-Präparate ein negatives Resultat geliefert haben, während ich in den entsprechenden, nach Ziehl gefärbten Präparaten sogar ziemlich viel Tuberkelbacillen auffinden konnte. Solche Fälle führe ich einfach darauf zurück, daß es nicht immer gelingt, das Material ganz gleichmäßig zu verteilen.

Bei Färbungen der Präparate aus Reinkulturen habe ich folgendes festgestellt: Solange die Kulturen noch jung sind, färben sich die Bacillen gleich gut nach Ziehl wie nach Gram, und die Präparate zeigen keine wesentlichen Unterschiede. Sobald sie älter werden (schon nach 7—8 Tagen) gibt die Gramsche Färbung schönere, klarere Bilder. Sehr viele Stäbchen erscheinen granuliert, während die Ziehlsche Färbung nur homogen gefärbte Bacillen aufweist.

Einen großen Nachteil hat diese Färbung, sie dauert sehr lange und ist umständlicher als diejenige nach Ziehl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

d) Differentialdiagnostischer Wert der Färbungen. Fehlerquellen.

Es erübrigt noch die Frage nach der diagnostischen Bedeutung der betreffenden Färbemethoden.

Wir besitzen zwar keine absolut sichere Färbungsmethode zur Differenzierung der Tuberkelbacillen von anderen säure- und alkoholfesten Bakterien. Aber unter den verschiedenen, bisher angegebenen, scheint mir diejenige nach Ziehl-Neelsen doch die zuverlässigste zu sein. So können wir z. B. die Smegmabacillen von den Tuberkelbacillen dadurch unterscheiden, daß sie sich bei längerer Anwendung von Säure leichter entfärben, ebenso Lepra. Viele säurefeste Bakterien färben sich überhaupt mit einfachen Anilinfarben.

Dabei ist das Ziehlsche Verfahren leichter, bequemer und rascher ausführbar als die anderen. — Die Gram-Methode II ergibt zwar schöne Bilder hinsichtlich der Struktur der Tuberkelbacillen und deshalb ist sie gut verwendbar nur bei Reinkulturen, aber auf Grund dieser Färbung allein eine Diagnose auf Tuberkelbacillen bei Untersuchung von Sputum, Geweben oder Bakteriengemischen zu stellen, halte ich doch für gewagt. Sogar bei gewisser Uebung kann man nie vollständig sicher sein, ob die blau gefärbten Stäbchen und Stäbchenverbände wirklich Tuberkelbacillen sind, oder nicht vielleicht andere säurefeste oder grampositive Bakterien und Kokken.

Um so weniger dürfte man die einzeln liegenden Granula als Bacillenkörnchen deuten, weil hier sehr leicht Verwechslungen mit grampositiven Kokken entstehen können, besonders in Sputumpräparaten.

Much gibt zwar an, daß die Granula der Tuberkelbacillen sich oft schon nach 24 Stunden entfärben, und dies soll auch als Differenzierung dieser Gebilde von anderen möglichen Niederschlägen dienen. In meinen Präparaten habe ich sogar nach einigen Wochen nie eine solche vollständige Entfärbung der Granula bemerkt, wohl aber eine Abblassung des ganzen Präparates.

V. Kombination der Färbungsmethoden nach Ziehl und Gram.

Bei diesen Versuchen verfuhr ich, wie folgt: Das nach Ziehl-Neelsen, wie gewöhnlich, gefärbte Präparat übergoß ich mit der kalten Methylviolettlösung (nach Much) für 3—5 Minuten, nachher mit Lugolscher Lösung ca. 2 Minuten und entfärbte es dann mit 10-proz. Acetonalkohol.

Als Material benutzte ich hierbei Sputum und hauptsächlich Reinkulturen (Rinder- und Menschentuberkulose), junge, sowie solche, die 4—14 Wochen alt waren. Besonders schöne Bilder bekommt man bei Verwendung älterer Glyzerinbouillonkulturen.

Das Bild ist immer folgendes: In dem rot gefärbten Bakterienleibe sieht man eingebettet ganz dunkle, fast schwarze Granula, deren Durchmesser größer ist, als derjenige des Stäbchens. Die Ursache ihrer sehr dunklen Färbung liegt offenbar darin, daß die bereits rot gefärbten Körnchen noch den blauen Farbstoff aufgenommen haben und deshalb jetzt blauschwarz erscheinen (Mischfarbe). — In jungen Formen meist in der Einzahl vorhanden, treten sie in älteren Kulturen reichlicher auf. Da liegen sie zu 2—4 und mehr in jedem Stäbchen, meistens aber zu 3;

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ihr Abstand voneinander ist ziemlich groß. Wenn ein Stäbchen die typische Winkelknickung zeigt, so liegt gewöhnlich ein Körnchen in der Beugungsstelle, und je eines an jedem Ende.

Dieselben Granula fand ich bei dieser Färbungskombination auch in anderen säurefesten Bakterien, wie Blindschleichentuberkulose und Smegmabacillen, und zwar sowohl in sehr jungen als in älteren Kulturen.

Eine länger andauernde Säurebehandlung (5-proz. Salpetersäure und 3-proz. Salzsäure) entfärbt die Körnchen nicht.

Ob diese Körnchen identisch sind mit den Muchschen Granula, ist schwer zu entscheiden. Jedenfalls sind sie ihnen sehr ähnlich, nur erscheinen sie nicht so scharf konturiert als die Granula, vielleicht deshalb, weil sie durch die rote Hülle des Stäbchens nicht ganz deutlich hervortreten.

Die hyperchromatische Eigenschaft dieser Körnchen deutet darauf hin, daß die Bakterien ebenso wie die pflanzlichen und tierischen Zellen vielleicht ein Kerngebilde besitzen. Ob wir es in diesem Falle mit Kerngebilden zu tun haben oder mit Degenerationsprodukten von Kernen, darüber wage ich kein Urteil auszusprechen. Jedenfalls scheint mir, daß die Körnchen mit den Zellkernen in sehr naher Beziehung stehen.

VI. Zusammenstellung einiger Resultate meiner Färbungsversuche.

In der vorliegenden Tabelle sollen die Ergebnisse über einige von mir angestellte vergleichende Untersuchungen der Färbungsmethoden übersichtlich zusammengestellt werden.

Ausstrichpräparate.

I. Meerschweinchen (Typus bovinus geimpft).

a) Lymphdrüse.

1) Zl.-N.: In einem Präparate 2—3 zerfallene Stäbchen. In den übrigen negatives Resultat.

2) Grm. II (24 St. gef.): Spärlich gleichmäßig gefärbte Stäbchen; die meisten granuliert, bestehen aus 3—6 Granula.

b) Lunge.

1) Zl.-N.: Negatives Resultat.

2) Grm. II (24 St. gef.): Vereinzelte Bacillen gleichmäßig gefärbt; die meisten granuliert.

c) Milz.

1) Zl.-N.: In jedem Präparat je 1 Stäbchen.

2) Grm. II (24 St. gef.): Granula im Stäbchenverband; daneben viele feine Granula haufenweise liegend.

II. Meerschweinchen (Typus humanus geimpft).

a) Lunge.

1) Zl.-N.: Sehr wenig Bacillen; in 6 Präparaten insgesamt etwa 3—4.

2) Grm. II (24—48 St. gef.): Dasselbe Resultat.

3) Gas.: Negatives Resultat.

III. Meerschweinchen (Typus bovinus geimpft).

a) Lunge.

1) Zl.-N.: In 3 Präparaten negatives Resultat. In weiteren Präparaten ziemlich viel Stäbchen.

2) Grm. II (24—48 St. gef.): In allen Präparaten granulierte Stäbchen aus 4—5 Körnchen bestehend, in jedem Gesichtsfeld 1—2 Stäbchen.

3) Gas.: In 2 Präparaten negatives Resultat. In den übrigen vereinzelte Bacillen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Lymphdrüse.

1) Zl.-N.: In 2 Präparaten negatives Resultat; in den übrigen durchschnittlich zu 2—3 Stäbchen.

2) Grm. II (24 St. gef.): Vereinzelte granulierte Stäbchen.

3) Gas.: Vereinzelte Stäbchen; in einigen sieht man ein dunkleres Körnchen in der Mitte oder zu je einem an beiden Enden.

IV. Kaninchen (Typus bovinus geimpft).

a) Lunge.

1) Zl.-N.: Lange homogen gefärbte Stäbchen, in jedem Gesichtsfeld 1—2; an einer Stelle etwa 30 in einem Haufen zusammenliegend.

2) Grm. II (48 St. gef.): Bacillen zahlreich, wie nach Zl.-N.; ebenso lang, nur granuliert; enthalten bis 7 Körnchen; vereinzelte Stäbchen homogen gefärbt, mit je einem dunkleren Körnchen an den Enden.

3) Gas.: In allen Präparaten negatives Resultat.

V. Meerschweinchen.

a) Knötchen aus der Lunge.

1) Zl.-N.:
2) Grm. II: } Negatives Resultat.
3) Gas.:

VI. Meerschweinchen.

a) Käsige Drüse.

1) Zl.-N.: Sehr wenig Stäbchen; kurze und längere; teils zerfallen.

2) Grm. II (24 St.): Ziemlich viele granulierte Stäbchen.

3) Gas.: In 2 Präparaten negatives Resultat; in den übrigen etwa 3—4 Stäbchen.

VII. Meerschweinchen.

a) Lymphdrüse.

1) Zl.-N.: Vereinzelte, meist zerfallene Stäbchen.

2) Grm. II (36 St.): Lauter granulierte Stäbchen; vielmehr als nach Ziehl.

Grm. II (4 × 24 St.): Wenig Stäbchen; viele einzeln liegende Granula, oder in kleinen Häufchen.

b) Lunge.

1) Zl.-N.: In einem Präparate negatives Resultat; in den übrigen je ein Stäbchen.

2) Grm. II (48 St.):
Grm. II (3 × 24 St.): } Negatives Resultat.

VIII. Meerschweinchen.

a) Drüse.

1) Zl.-N.: Vereinzelte Stäbchen, teils ganz, teils zerfallen.

2 Grm. II (24 St. gef.): Vereinzelte Stäbchen, aus je 3 Granula bestehend; daneben einzelne Granula.

Umfärbung nach Ziehl: Bedeutend mehr Bacillen. In jedem 3. oder 4. Gesichtsfeld einzelne Stäbchen, meist zerfallen; an einigen Stellen blaue Stäbchen mit einem Stich ins Rötliche.

b) Leber (zerrieben).

1) Zl.-N.: Nur 1 ganzes Stäbchen; viele Körnchen.

2) Gas.: Negatives Resultat.

3) Grm. (24 St.): Granula in Häufchen liegend; daneben vereinzelte granulierte Stäbchen.

Umfärbung nach Ziehl: Viel mehr Stäbchen; fast alle zerfallen in 2—4 Stückchen; einzelne Körnchen; die Häufchen von Granula nicht mehr sichtbar.

c) Junges Knötchen aus der Leber.

1) Zl.-N.
2) Grm. II (24 St.): } Negatives Resultat.

IX. Kaninchen.

a) Lunge.

1) Zl.-N.: 2—3 in jedem Präparat zum Teil zerfallene Stäbchen.

2) Grm. II (3 × 24 St.): In jedem Gesichtsfelde 2—3 granulierte Stäbchen.

3) Gas. (1/2 St. gef.): In jedem Präparate 2—3 Stäbchen, meist zerfallene.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

X. Meerschweinchen.

a) Drüse.

1) Zl.-N.: Ziemlich viele, meist zerfallene Bacillen.
2) Grm. (1—2 × 24 St.): Ziemlich viele granulierte Stäbchen.
Grm. II (3 × 24 St.): Sehr zahlreiche granulierte Stäbchen; in jedem Gesichtsfeld 10—12; daneben isoliert liegende Granula.

b) Lunge.

1) Zl.-N.: } Negatives Resultat.
2) Gas.: }
3) Grm. II (2—3 × 24 St.): In jedem Präparate 1—3 granulierte Stäbchen.

XI. Meerschweinchen (Typus bovinus geimpft).

3 Wochen nach Verimpfung getötet.

a) Drüse.

1) Zl.-N.: In jedem Gesichtsfelde 2—3 kurze, dicke Stäbchen.
2) Grm. II (2—3 × 24 St.): In jedem Präparat 3—4 Stäbchen.

b) Leber (zerrieben).

1) Zl.-N.: Negatives Resultat.
Zl.-N. (2 × 24 St. gef.): Im 1. Präparate 4—5 Stäbchen; im 2. etwa 3; alle kurz, dick.
2) Grm. II (2—4 × 24 St.): Negatives Resultat.

c) Niere (zerrieben).

1) Zl.-N.: In jedem Präparate etwa 1 Stäbchen.
Zl.-N. (24 St. gef.): Im 1. Präparate 7 Stäbchen; im 2. nichts.
2) Grm. II (4 × 24 St.): Sehr viele kurze, dicke und homogen gefärbte Stäbchen; nur sehr wenige granuliert, aus 3 Granula bestehend.

XII. Meerschweinchen (einige Monate nach der Infektion eingegangen).

a) Altes Knötchen aus der Lunge.

1) Zl.-N.: }
2) Grm. II (1/2 St.): } Negatives Resultat.
3) Grm. II (1—2 × 24 St.): }

XIII. Sputum (mit Antiformin behandelt).

1) Zl.-N.: In jedem Präparate 7—8 Bacillen.
2) Grm. II (24 St.): Viel mehr Bacillen; fast alle granuliert.
3) Gas.: In jedem Präparate 3—4 Stäbchen.

XIV. Sputum (mit Antiformin behandelt).

1) Zl.-N.: Ziemlich viel Stäbchen; einige zerfallen.
2) Gas.: Dasselbe Bild.
3) Grm. II (24 St.): Ebenfalls viele Stäbchen; alle granuliert.

XV. Sputum (in Ammoniak gelöst).

1) Zl.-N.: Sehr viel Stäbchen, meist zerfallen.
2) Gas.: Dasselbe Bild.
3) Grm. II (24 St.): Viele Stäbchen; fast alle granuliert; die homogen gefärbten enthalten je 1 Körnchen entweder in der Mitte oder an den Polen.

XVI. Sputum.

1) Zl.-N.: Wenig Stäbchen; in jedem Präparate 3—4; ganz und lang.
2) Grm. II (24 St.): Ziemlich viele granulierte Stäbchen; lang; bestehen aus 7 bis 8 Granula.

XVII. Sputum.

1) Zl.-N.: Sehr viele, meist zerfallene Stäbchen.
2) Grm. II (15 Min. gef.): Lauter feine granulierte Stäbchen.
Grm. II (24 St.): Dasselbe Bild.
Umfärbung nach Ziehl: Mehr Stäbchen als in dem Gramschen Präparate; kein einzelnes granuliertes; einige Stäbchen sind violett gefärbt geblieben.
Umfärbung nach Ziehl (mit kalter Farblösung 2 Min. gef. und mit 1-proz. Salzsäurealkohol entfärbt): Die meisten Stäbchen sind violett, von rötlichem Saum umgeben; die violetten Granula sind von einer roten Hülle umgeben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

XVIII. Sputum (mit Antiformin behandelt).

1) Zl.-N.: Wenige, meist zerfallene Stäbchen.
2) Grm. II (15 Min.): Viele granulierte Stäbchen.
Grm. II (24 St.): Aehnliches Bild.
Umfärbung nach Ziehl (mit kalter Farblösung 2 Min. usw.): Aehnliches Bild wie in Fall XVII.

XIX. Sputum.

1) Zl.-N.: Sehr viele Stäbchen.
2) Grm. II ($^1/_2$ St.): Sehr viele Stäbchen; die meisten granuliert; in einigen Stäbchen liegt ein größeres und dunkler gefärbtes Granulum in der Mitte.
Umfärbung nach Ziehl (mit kalter Farblösung 2 Min. usw.): An einigen Stäbchen ist das eine Ende rot gefärbt, das andere blau; sonst das übliche Bild.
3) Gas.: Die Stäbchen sind homogen, sehr blaß gefärbt.

XXI. Eiter aus einer menschlichen Halsdrüse.

1) Zl.-N.: In jedem Präparate je 1 Stäbchen.
2) Grm. II (24 St.): Nur in 1 Präparate 1 granuliertes Stäbchen.

Reinkulturen auf Gehirnagar.

XXII. R.-Tb. (3 Tage alt).

1) Zl.-N.: Ganz feine kurze Stäbchen.
2) Grm. II (24 St.): Aehnliches Bild.

XXIII. R.-Tb. (8 Tage alt).

1) Zl.-N.: Feine kurze Stäbchen.
2) Grm. II (24 St.): Mehrere Stäbchen granuliert, enthalten 2—4 Granula.

XXIV. R.-Tb. (2 Wochen alt).

1) Zl.-N.: Die meisten Stäbchen in Körnchen zerfallen.
2) Gas: Aehnliches Bild.
3) Grm. II (24 St.): Längere Stäbchen aus 3—4 Granula bestehend; kürzere homogen gefärbt.

XXV. R.-Tb. (3 Wochen alt).

1) Zl.-N.: Fast alle Stäbchen in Körnchen zerfallen.
2) Grm. II (24 St.): Das übliche Bild.

XXVI. R.-Tb. (3 Monate alt).

1) Zl.-N.: Dicke, lange Stäbchen mit kolbenartigen Anschwellungen an den Enden; kürzere Stäbchen und Körnchen.
2) Grm. II (15 Min.): } Kein klares Bild; Körnchen und zerfallene Stäbchen.
Grm. II (24 St.): }

XXVII. M.-Tb. (3 Tage alt).

1) Zl.-N.: Feine kleine Stäbchen.
2) Gas.: Aehnliches Bild.
3) Grm. II (24 St.): Die meisten Stäbchen sind granuliert, enthalten 2—4 Granula.

XXVIII. M.-Tb. (11 Tage alt).

1) Zl.-N.: Sehr kurze Stäbchen; viele Körnchen.
2) Grm. II (24 St.): Viele längere granulierte, wenige kurze Stäbchen; einzelne Granula.

Reinkulturen in Glyzerinbouillon.

XXIX. R.-Tb. (5 Tage alt).

1) Zl.-N.: Kurze ganze Stäbchen.
2) Gas.: } Das gleiche Bild.
3) Grm. II (24 Std.): }

XXX. R.-Tb. (11 Tage alt).

1) Zl.-N.: Dieselben kurzen Stäbchen; viele Körnchen.
2) Gas.: Aehnliches Bild.
3) Grm. II (24 St.): Granulierte Stäbchen, meist je 2 Granula enthaltend.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

XXXI. R.-Tb. (10 Wochen alt).

1) Zl.-N.: Ziemlich dicke Stäbchen, in denen man bei höherer Einstellung des Mikroskops stark lichtbrechende runde Gebilde sieht; viele Körnchen.

2) Grm. II (24 St.): Viele Stäbchen granuliert (3—7 Granula); viele gleichmäßig gefärbt; viele Körnchen.

Umfärbung nach Ziehl: Die Stäbchen sind entweder gleichmäßig rot, oder dunkelblau von einer rötlichen Hülle umgeben; die Granula im Stäbchenverband mit roter Hülle.

VII. Zusammenfassung.

Wenn ich die Resultate meiner Untersuchungen kurz zusammenfasse, so ergibt sich folgendes:

1) Die Färbungsmethode nach Gasis bietet weder besonderes wissenschaftliches Interesse, denn sie gewährt uns keinen tieferen Einblick in die Struktur des Tuberkelbacillus, den man mit den bisher bekannten Färbungen nicht hätte gewinnen können; noch hat sie einen Wert für praktische Zwecke. Die Bacillen sind in geringerer Zahl nachweisbar und viel schlechter gefärbt, als in den Ziehlschen Präparaten. Sie sind gewöhnlich blaß, matt, wenig auffallend, weshalb sie auch leicht übersehen werden können. Abgesehen davon, ist diese Färbungsmethode viel umständlicher und schwieriger auszuführen, als die übrigen Methoden.

2) Die nach Much modifizierte Gram-Methode II ist gut anwendbar bei Studien von Reinkulturen, weil man mit ihr die Degenerationsformen, die Retraktionen der inneren Teile der Stäbchen, ferner die Struktur der jüngsten Bacillen, die sich anders verhalten, als die in alten Kulturen in der Mehrzahl vorhandenen, sehr schön studieren kann. Bei Untersuchungen von tierischen Organen ist sie weniger zu empfehlen, weil sich hier die Tuberkelbacillen vom übrigen Gewebe undeutlich abheben. Wenn es sich um Differentialdiagnose handelt, wo meistens auch Mischinfektion vorkommt, wie z. B. bei Untersuchung von Sputum, Urin, darf man diese Färbung indessen nicht anwenden, denn sie könnte zu Irrtümern, wie oben auseinandergesetzt ist, führen. Bei der Differentialdiagnose bietet also diese Färbungsmethode nicht mehr, wenn nicht weniger, als die nach Ziehl-Neelsen. Dazu kommt der Uebelstand, daß sie viel länger dauert und komplizierter ist, als die Ziehlsche Methode.

3) Die klarsten und deutlichsten Bilder ergibt die Ziehlsche Färbung. Bei Mischinfektion bietet sie jedenfalls viel geringere Fehlerquellen, als die anderen Methoden. Auch was den quantitativen Nachweis der Bacillen betrifft, steht sie nicht der Gramschen Färbung nach. Schließlich, was Schnelligkeit und Einfachheit anbelangt, übertrifft sie zweifellos alle übrigen Methoden.

4) Es liegen keine Beweise dafür vor, daß die Muchschen Granula Entwickelungsformen oder Dauerformen der Tuberkelbacillen sind. Vielmehr dürfen wir sie als Zerfallsprodukte der Bacillen auffassen, die nach

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verlust ihrer säurefesten Membran sich nicht mehr homogen färben lassen und deshalb gekörnt erscheinen.

5) Die Umfärbungen nach Ziehl der bereits nach Gram gefärbten Präparate geben uns eine Möglichkeit, die granuläre Form des Tuberkelbacillus von Kokken und sonstigen Niederschlägen zu unterscheiden.

6) Die Kombination zweier Färbungen, nach Ziehl und Gram, gewährt uns einen besseren Einblick in die feinere Struktur des Tuberkelbacillus, als die neuen Verfahren von Much oder Gasis.

Zum Schluß sei mir gestattet, Herrn Prof. Dr. Kolle für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für den stets bereitwilligen Rat und die wirksame Unterstützung meinen innigsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) Koch, R., Die Aetiologie der Tuberkulose. (Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 2. 1884.)
2) Fischel, F., Untersuchungen über Morphologie und Biologie des Tuberkuloseerregers. (Aus d. Hyg. Instit. d. deutsch. Univers. Prag.)
3) Metschnikoff, Virchows Arch. Bd. 113. 1888.
4) Coppen, Jones, Ueber die Morphologie und systematische Stellung des Tuberkulosepilzes etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 17. 1895.)
5) Baumgarten, Lehrbuch der path. Mykologie.
6) Spengler, Ueber Splittersputa Tuberkulöser. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 49. 1905.)
7) — —, Artverschiedenheit der Tuberkulose- und Perlsuchtbacillen etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907.)
8) Sander, Ueber das Wachstum der Tuberkelbacillen auf pflanzlichen Nährböden. (Arch. f. Hyg. Bd. 16. Heft 3.)
9) Wladimiroff, Ueber die Biologie des Tuberkelbacillus. (St. Petersburger med. Wochenschr. 1908. No. 50.)
10) Günther, C., Einführung in das Studium der Bakteriologie.
11) Preisz, H., Bakteriologie.
12) Much, Ueber die granuläre nach Ziehl nicht färbbare Form des Tuberkulosevirus. (Beitr. z. Klin. d. Tuberk. Bd. 8. 1907. Heft 1.)
13) — —, Die nach Ziehl nicht darstellbaren Formen des Tuberkelbacillus. (Berlin. klin. Wochenschr. 1908. No. 14.)
14) v. Betegh, Neue differentialdiagnostische Färbemethoden etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908.)
15) Wirths, Ueber die Muchsche granuläre Form des Tuberkulosevirus. (München. med. Wochenschr. 1908. No. 32.)
16) Fontes, Untersuchungen über die chemische Natur der den Tuberkelbacillen eigenen Fett- und Wachsarten etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909.)
17) Caan, Vergleichende Untersuchungen über neuere Methoden der Tuberkulosepilzfärbungen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909.)
18) Gasis, Ueber eine neue Reaktion der Tuberkelbacillen und eine darauf begründete differentialdiagnostische Färbemethode derselben. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909.)
19) Ehrlich, Färbung der Tuberkelbacillen. (Dtsche med. Wochenschr. 1882.)
20) Ziehl, Zur Färbung des Tuberkelbacillus. (Dtsche med. Wochenschr. 1882.)
21) Bienstock, Zur Frage der sogenannten Syphilisbacillen und der Tuberkelbacillenfärbung. (Fortschr. d. Med. 1886.)
22) Unna, Die Entwickelung der Bakterienfärbung. Jena (Fischer) 1888.
23) Hammerschlag, Bakteriologisch-chemische Untersuchungen über Tuberkelbacillen. (Centralbl. f. klin. Med. Bd. 12.)
24) Klebs, Ueber heilende und immunisierende Substanzen aus Tuberkelbacillenkulturen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 20. 1896.)
25) Weyl, Zur Chemie und Toxikologie des Tuberkelbacillus. (Dtsche med. Wochenschrift. 1891. No. 7.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

26) Aronson, Zur Biologie der Tuberkelbacillen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1898. No. 22.)
27) Helbing, Erklärungsversuch für die spezifische Färbbarkeit der Tuberkelbacillen. (Dtsche med. Wochenschr. 1900.)
28) Klein, Zur Kenntnis der Verbreitung des Bac. tuberculosis etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 28. 1900.)
29) Grimme, Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902.)
30) Weiss, Zur Morphologie des Tuberkulosevirus unter besonderer Berücksichtigung einer Doppelfärbung. (Berlin. klin. Wochenschr. 1909. No. 40.)
31) Gasis, Ein weiterer Beitrag zu meiner neuen Differentialfärbungsmethode der Tuberkelbacillen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1909. No. 18.)

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen

Inhalt.

Barlocco, Amerigo, Diphtherietoxin und Lipolyse durch Organe, p. 110.
Berké, Parasitologische Studien aus Kamerun. I., p. 129.
Bertarelli, E. und **Datta, L.,** Experimentelle Untersuchungen über Antituberkulin, p. 152.
Bruschettini, A., Die Immunisierung und Behandlung der Tuberkulose, p. 148.
Cannata, S. und **Mitra, M.,** Einfluß einiger Milchfermente auf Vitalität und Virulenz verschiedener pathogener Mikroorganismen, p. 160
Galli-Valerio, B. und **Rochaz de Jongh, J.,** Beobachtungen über Culiciden, p. 125.
Livierato, Spiro und **Crossonini, Ernesto,** Untersuchungen über die tuberkulösen Exsudate beim Menschen in ihren Beziehungen zur Immunität, p. 139.
Lunz, Roman, Zur Differenzierung der Dysenteriebacillen mittels der Komplementablenkungsmethode, p. 168.
Müller, Reiner, Mutationen bei Typhus- und Ruhrbakterien, p. 97.
Predtjetschensky, W., Weitere Untersuchungen über den Flecktyphuserreger, p. 106.
Rosenblat, S., Vergleichende Untersuchungen über neuere Färbungsmethoden der Tuberkelbacillen, nebst einem Beitrag zur Morphologie dieser Mikroorganismen, p. 173.
Rusznyák, St., Untersuchungen über die Wirkungsweise des Antityphusserums, p. 134.
Zweifel, Erwin, Bakteriologische Untersuchungen von rohem Hackfleisch, mit besonderer Berücksichtigung der Bacillen der Paratyphusgruppe, p. 115.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 58. Heft 3.
Ausgegeben am 1. April 1911.

Nachdruck verboten.

Untersuchung eines streng anaëroben Bacillus, ausschliesslichen Erregers einer eiterigen Pleuritis[1]).

Bakteriologische, experimentelle und histologische Untersuchungen.

[Aus der chirurgischen Universitätsklinik zu Pisa (Direktor: Prof. Ceci).]

Von Dr. **Francesco Niosi,** Assistenten und Privatdozenten.

Mit 4 Figuren.

Obwohl das Studium der anaëroben Keime mit dem Entstehen der Bakteriologie seinen Anfang genommen hat, ist es doch nicht in gleichem Maße wie das der aëroben Keime fortgeschritten.

Allerdings haben nach der denkwürdigen Entdeckung des „Lebens ohne Luft" durch Pasteur mehrere Autoren die Anaëroben unter dem Gesichtspunkt der Aufgabe untersucht, die dieselben bei den Gärungen haben [Fitz[2]), Prażmowski[3]), Duclaux[4]), Gruber[5]), Botkin[6]), Perdrix[7]), Kedrowski[8]), Grimbert[9]), Flügge[10]), Beijerinck[11]), Bayer[12])]; andere studierten sie unter dem naturwissenschaftlichen Gesichtspunkt statt unter dem pathologischen [Liborius[13]), Lüderitz[14]), Okada[15]), Sanfelice[16]), Gerstner[17]) etc.)]; nicht wenige wendeten ihre Bemühungen auf die Vervollkommnung der Technik [Nencki[18]), Koch[19]), Liborius[13]), Sanfelice[16]), Botkin[6]), Hesse[20]), Migula[21]), Novy[22]), Lubinski[23]), Roux[24]), Gruber[5]),

1) Mitgeteilt auf dem Kongreß der italienischen Chirurgen. Rom, 31. Oktober bis 2. November 1909.

2) 3) 4) zit. bei Veillon et Zuber, Arch. de méd. expér. 1898.

5) Gruber, Eine Methode der Kultur anaërober Bakterien, nebst Bemerkungen zur Morphologie der Buttersäuregärung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 1.)

6) Botkin, Eine einfache Methode zur Isolierung anaërober Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. 1891.)

7) Perdrix, Sur les fermentations prod. par un micr. anaér. de l'eau. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 5.)

8) 9) 10) 11) 12) zit. bei Veillon et Zuber, l. c.

13) Liborius, Beitrag zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1.)

14) Lüderitz, Zur Kenntnis der anaëroben Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5.)

15) Okada, Ueber einen roten Farbstoff erzeugenden Bacillus aus Fußbodenstaub. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 11. 1892. p. 1.)

16) Sanfelice, Untersuchungen über anaërobe Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. 1893.)

17) Gerstner, Beiträge zur Kenntnis obligat anaërober Bakterienarten. (Arb. a. d. bakt. Inst. d. techn. Hochschule Karlsruhe. Bd. 1. 1894.)

18) Nencki, Beiträge zur Biologie der Spaltpilze. 1880.

19) Koch, Zur Aetiologie des Milzbrandes. (Mitteil. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 1. 1881.)

20) Hesse, Ein neues Verfahren zur Züchtung anaërober Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. 1892.)

21) Migula, Ueber einen neuen Apparat etc. (Tierärztl. Wochenschr. 1895.)

22) Novy, Die Kultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 14. 1893.)

23) Lubinski, Zur Methode der Kultur anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 16.)

24) Roux, Sur la culture des microbes anaérobies. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1887—1888.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vignal[1]), Kitasato[2]), Roth[3]), Buchner[4]), Trambusti[5]) etc.].

Was aber die pathogenen Anaëroben anbelangt, so waren unsere Kenntnisse noch bis vor wenig über ein Jahrhundert auf den Vibrio septicus, den Rauschbrandbacillus, den Tetanusbacillus, den Welch-Fraenkelschen Bacillus, der als spezifisch für die Gasgangrän gehalten wurde, beschränkt.

Zweifellos lag die Ursache dieses beschränkten Fortschrittes auf dem Gebiete der Anaërobenmikrobiologie ganz und gar in den Schwierigkeiten der Technik, die, wenn sie auch heute, dank der wichtigen Entdeckung Tarozzis[6]), der mit einer höchst einfachen Methode die Anaëroben an der Luft zu kultivieren gelehrt hat, geringere geworden sind, immer noch, was die Isolierung anbelangt, fortdauern.

Abgesehen von den Schwierigkeiten zur Erzielung einer vollkommenen Anaërobiosis und der geringeren Vitalität gewisser Anaëroben im Vergleich mit Aëroben, ist die Isolierung gewisser Anaëroben insofern bei weitem schwieriger, da die Läsionen durch Anaëroben meistens durch mehrere differente Keime gegeben sind (Polymikrobeninfektionen).

Das Studium der pathogenen Anaëroben ist in eine neue Phase eingetreten, seitdem Veillon[7]) im Jahre 1893 in der Biologischen Gesellschaft zu Paris auf die paradoxe Erscheinung aufmerksam machte, daß bei den Läsionen mit den Charakteren der Fötidität und der Gangrän bei der mikroskopischen Untersuchung des Eiters und der Gewebe zwar eine Infinität von Keimen von verschiedener Species gefunden werden, aus der aërob angestellten kulturellen Untersuchung aber nur wenige Kolonieen erhalten werden oder nicht selten die Kulturen sogar steril bleiben. Die Erscheinung war ziemlich häufig beobachtet, die Vermutung aber, daß die Bakterien zum Teil oder in ihrer Gesamtheit abgestorben wären, beseitigte das Paradoxe. Veillon meinte dagegen, es könne die Sterilität oder die Spärlichkeit der Entwickelung der Kulturen davon abhängig sein, daß die für abgestorben erachteten Keime zur Kategorie der Anaëroben gehörten. Geleitet durch dieses Kriterium, unternahm er eine Reihe von Untersuchungen an fötiden und gangränösen Eiterungsprozessen (Lungengangrän, Otitiden, Mastoiditiden, intrakraniellen Abscessen otitischen Ursprungs, Anginen, Zahncaries, Appendicitiden, Peritonitiden, periintestinalen Phlegmonen, Bartolinitiden, Eiterung der Uterusadnexe etc.), und fand stets anaërobe Keime allein oder vergesellschaftet mit Aëroben.

---

1) Vignal, Sur un moyen d'isolation et de culture des microbes anaérobies. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1887.)

2) Kitasato, Ueber das Wachstum des Rauschbrandbacillus in festen Nährsubstraten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890.)

3) Roth, Ueber ein einfaches Verfahren etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 13. 1893. p. 223.)

4) Buchner, Eine neue Methode zur Kultur anaërober Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 4. 1888. p. 149.)

5) Trambusti, Ueber einen Apparat etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 11. 1892. p. 623.)

6) Tarozzi, Sulla possibilità di coltivare facilmente all'aria in cultura pura i germi anaerobici. (Atti R. Accad. Fisiocritici di Siena. 1905; Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. p. 619.)

7) Veillon, Sur un microcoque anaérobie trouvé dans les suppurations. (Soc. de Biol. 1893.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Arbeiten Veillons und seiner Schüler [Zuber[1]), Hallé[2]), Rist[3]), Cottet[4]), Guillemot[5]), Tissier[6])] haben wertvolle Beiträge zur Kenntnis der Anaërobenflora geliefert; sie haben uns eine große Zahl von neuen Keimen kennen gelehrt, deren pathogene Wirkung einwandsfrei dargetan wurde, und haben anderen Forschern ein fruchtbares Untersuchungsgebiet erschlossen.

Ohne Anspruch auf Vollständigkeit zu erheben, möchte ich hier flüchtig an die wichtigsten Arbeiten erinnern, die nach der Mitteilung Veillons in der Société de Biologie erschienen sind.

Die Bedeutung der Anaëroben bei den fötiden Eiterungen des Ohres ist von Rist[3]), Veillon et Zuber[7]), Funke, Politzer[8]) und Neumann und bei den cerebralen und meningealen otitischen und nicht-otitischen Eiterungen durch Rist[3]) selbst, Hitschmann und Lidenthal[9]), Howard[10]), Moser[11]), Ghon, Mucha und Müller[12]), Heyde[13]) nachgewiesen worden.

Die Anaëroben bei den Appendicitiden sind studiert worden durch Veillon et Zuber[7]), Lanz et Tavel[14]), Mayer[15]), Perrone[16]), Lotti[17]) u. a.; bei den appendicitischen und nicht-appendicitischen Peritonitiden durch Friedrich[18]), Welch[19]), Brunner[20]), Ghon und

1) Zuber et Lerobuillet, Cholécystite calculeuse. (Gaz. hebd. de méd. et chir. 1898.)

2) Hallé, Recherches sur la bactériol. du canal gén. de la femme. [Thèse.] Paris 1898. — Hallé et Bakaloglu, Sur la présence de microbes strictement anaér. dans un cyste suppuré du foie. (Arch. de méd. expér. 1900.)

3) Rist, Anaérobies pathog. et suppuration gangréneuses. (Bull. Instit. Pasteur. 1905.) — Étude bactér. de sept cas de salping. suppurée. (Soc. de Biol. 1902.) — Sur quelques cas de balanites à microorg. strictement anaérob. (Soc. de dermat. et syphil. 1904.) — Rist et Mouchette, Étude bact. sur quelques cas d'inf. puerpér. post-abortives. (Soc. de Biol. 1902.)

4) Cottet, Recherches sur les suppurations périuréthrales. Paris 1899. — Note sur un microcoque strictement anaérob. trouvé dans les suppurations de l'appar. urinaire. (Soc. de Biol. 1900.)

5) Guillemot, Recherches sur la gangrène pulmonaire. [Thèse.] Paris 1898.

6) Tissier, Recherches sur la flore int. norm. et path. Paris 1900. — Répartition de micr. dans l'intest. etc. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1905.) — Étude sur une variété d'infect. intest. (Ibid. 1905.) — Recherches sur la flore int. norm. des enfants etc. (Ibid. 1908.)

7) Veillon et Zuber, Sur quelques microb. strictem. anaér. et leur rôle dans la pathologie humaine. (Arch. de méd. expér. 1898.)

8) Politzer, zit. bei Gaudiani, Ann. d'Ig. sperim. 1907 u. 1908.

9) Hitschmann u. Lidenthal, Ueber „Gangrène foudroyante". (Wien. klin. Wochenschr. 1890 u. Arch. f. klin. Chir. Bd. 59.)

10) Howard, Acut fibrino-purul. cerebrospinal meningitis. (Bull. of John Hopk. Hosp. Rep. Vol. 9.)

11) Moser, zit. bei Gaudiani, a. a. O.

12) Ghon, Mucha u. Müller, Zur Aetiologie der akuten Meningitis. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 41.)

13) Heyde, Zur Kenntnis der Gasgangrän und über einen Fall von Hirnabsceß, ausschließlich bedingt durch anaërobe Bakterien. (Beitr. z. klin. Chir. Bd. 61.)

14) Lanz et Tavel, Bactér. de l'appendicite. (Rev. de Chir. 1904.)

15) Mayer, zit. bei Lanz u. Tavel.

16) Perrone, Contribution à l'étude bactér. de l'appendicite. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1905.)

17) Lotti, Contributo alla conoscenza dei germi anaerobi dell'intestino in condizioni patologiche. (Ann. d'Ig. sperim. 1909.)

18) Friedrich, Zur bakteriologischen Aetiologie und zur Behandlung der diffusen Peritonitis. (Arch. f. klin. Chir. Bd. 68.)

19) Welch, Morbid conditions caused by B. aërog. capsul. (John Hopk. Hosp. Bull. 1900.)

20) Brunner, Weitere klinische Beobachtungen über Aetiologie und klinische Therapie der Magenperforation und Magenperitonitis. (Beitr. z. klin. Chir. Bd. 40.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mucha[1]), Gaudiani[2]); bei den Darminfektionen durch van Ermenghem[3]), Klein[4]), Tissier[5]), Lotti[6]).

Bei Leberläsionen und solchen der Gallenwege beschrieben anaërobe Keime Monod[7]), Harris[8]), Zuber et Lerobuillet[9]), Gilbert et Lippmann[10]), Hallé et Bakaloglu[11]), Pende[12]) u. a.

Bei den Eiterungen der Harnwege sind die Anaëroben Gegenstand wichtiger Beiträge gewesen seitens Veillon[13]), Albarran et Cottet[14]), Hartmann et Roger[15]), Ghon, Mucha und Müller[16]), Jungano[17]), Gaudiani[18]).

Ernst[19]), Holmsen[20]), Hartmann et Mignot[21]), Monod (l. c.), Hallé (l. c.), Rist (l. c.), Rist et Mouchette (l. c.), Wallgreen[22]), Gioelli[23]) studierten sie bei den Läsionen der weiblichen Genitalien.

Anaëroben sind auch bei den Läsionen durch Zahncaries angetroffen worden durch Monier[24]), bei einer akuten Osteomyelitis durch Lippmann et Froisy[25]), bei Lungengangrän durch Rist et Guillemot (l. c.), bei Augenleiden durch Veillon et Morax[26]), Chaillous[27]), Benedetti[28]), bei einer Septikämie vom Typus der Beulenpest durch

1) Ghon u. Mucha, Zur Aetiologie der Peritonitis. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 39—40.)

2) Gaudiani, I germi anaerobi nelle suppurazioni. (Ann. d'Ig. sperim. 1907.)

3) van Ermenghem, Ueber einen neuen anaëroben Bacillus etc. (Zeitschr. f. Hyg. 1897.)

4) Klein, Ueber einen pathogenen anaëroben Darmbacillus: „Bac. enteritidis sporogenes". (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 18.)

5) Tissier, l. c.

6) Lotti, l. c.

7) Monod, Associations bactér. d'aérobies et anaérobies: gangrène du foie. (Soc. de Biol. 1895.)

8) Harris, A preliminary report upon a hitherto undescribed bacillus. (Journ. of the Boston Soc. of Med. Scienc. Vol. 5.)

9) Zuber et Lerobuillet, l. c.

10) Gilbert et Lippmann, Note sur la bactériol. des abcès tropicaux du foie. (Soc. de Biol. 1907. 30 nov.) — Bactériologie des cholécystites. (Ibid. 1902. No. 30.)

11) Hallé et Bakaloglu, l. c.

12) Pende, La piopneumocolecistite. (Bull. Soc. Lancisiana. Anno 27.)

13) Veillon, l. c.

14) Albarran et Cottet, Note sur le rôle des micr. anaérobies. (Congr. franç. d'urol. 1898.)

15) Hartmann et Roger, Contribution à l'étude bactériol. des cystites. (Presse méd. 1902.)

16) Ghon, Mucha u. Müller, Zur Aetiologie des perinephritischen Abscesses. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 42.)

17) Jungano, Introduzione allo studio delle infezioni dell'appar. urinario con speciale riguardo alla presenza degli anaerobi. Napoli (Tipogr. F. Sangiovanni) 1907.

18) Gaudiani, l. c.

19) Ernst, Ueber einen gasbildenden Anaëroben im menschlichen Körper etc. (Virchows Arch. Bd. 133.)

20) Holmsen, zit. bei Gaudiani.

21) Hartmann et Mignot, Note sur la suppuration gangréneuse des fibromes indépend. de la cavité utérine. (Ann. de gynécol. 1896.)

22) Wallgreen, Ueber anaërobe Bakterien und ihr Vorkommen bei fötiden Eiterungen. (Centralbl. f. Gynäk. 1902.)

23) Gioelli, Studio sulla flora batterica patogena della cavità uterina nelle endocerviciti ed endometriti. (Arch. ital. di Ginecol. 1907.)

24) Monier, Contribution à l'étude des infect. dentaires. [Thèse.] Paris 1904.

25) Lippmann et Froisy, De l'ostéomyel. à micr. anaérobies. (Baumgartens Jahresber. 1902.)

26) Veillon et Morax, Péridacryocystite gangr. (Ann. d'Ocul. 1900.)

27) Chaillous, Deux cas d'infect. traumatique etc. (Ann. d'Ocul. 1905.)

28) Benedetti, Panoftalmite traumatica da perfringens. (Congr. oftalmolog. Ital. 1907.) — Sugli anaerobi dell'occhio. (Ibid.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Courmont et Cade[1]), bei akutem Gelenkrheumatismus durch Achalme[2]), Thiroloix[3]) u. a.

Sehr groß ist sodann die Zahl der Forscher, die nach Welch and Nuttall[4]), Fraenkel[5]) Anaëroben bei Gasgangränen und Gasphlegmonen antrafen: Unter ihnen figurieren nicht wenige italienische Autoren [Muscatello e Gangitano[6]), Cesaris-Demel[7]), Rodella[8]), Schupfer[9]), Anzilotti[10]), Gaudiani[11]) etc.].

Aber trotz des kräftigen Impulses, den Veillon den Untersuchungen über die Anaëroben gab, sind unsere heutigen Kenntnisse über die erwähnten Keime gegenüber den auf dem Gebiete der Aërobenmikrobiologie erworbenen recht gering.

Wer die Literatur der pathogenen Anaëroben durchsieht, kann nicht umhin, zwei Tatsachen zu konstatieren, nämlich 1) daß zahlreiche Autoren einen oder mehrere absolut neue Keime gefunden haben, so daß in wenigen Jahren ihre Zahl beträchtlich gestiegen ist; 2) daß andere studierte Keime nicht sicher identifiziert worden sind, da sie zwar durch verschiedene Charaktere früher beschriebenen Formen glichen, durch andere ziemlich wichtige aber davon abwichen. Weitere Untersuchungen sind also notwendig nicht nur zur Erkennung der eventuellen neuen Formen, sondern um festzulegen, ob die wenigen Differentialcharaktere, welche nicht gestattet haben, einen Keim einem anderen an die Seite zu stellen, konstant und wesentlich sind, so daß sie als zwei distinkte Keime von einer und derselben Gruppe betrachtet werden können, oder ob es sich nicht um akzessorische Charaktere handelt, die ein und derselbe Keim mit dem Variieren gewisser Bedingungen, die mit dem Nährboden, dem Wirt, der ihn beherbergt hat, der eventuellen Vergesellschaftung mit anderen Keimen in Zusammenhang stehen, erwerben oder verlieren kann.

Wie man sieht, ist das Feld alles andere als abgeerntet.

Angeregt durch diese Betrachtungen und auf den Rat meines Lehrers, Prof. Ceci, habe auch ich mich mit dem Gegenstand beschäftigen wollen. Seit längerer Zeit habe ich meine Untersuchungen in dem hiesigen hygienischen Institut[12]) begonnen, und setze sie jetzt im Labo-

---

1) Courmont et Cade, Sur une septicopyoémie de l'homme simulant la peste et causée par un streptobac. anaér. (Arch. de méd. expér. T. 2.)

2) Achalme, Recherches bactériol. sur le rhumatisme articulaire aigu. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897.)

3) Thiroloix, Exam. bactér. du sang de deux malades atteints du rhumatisme articulaire aigu. (Soc. de Biol. 1897.)

4) Welch and Nuttall, A gas producing bacillus etc. (John Hopk. Hosp. Bull. 1892.)

5) Fraenkel, E., Ueber Gasphlegmone. (München. med. Wochenschr. 1890; Hamburg 1893; Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 13; Zeitschr. f. Hyg. 1902.)

6) Muscatello e Gangitano, Ricerche sulla cangrena gassosa. (Riforma med. u. München. med. Wochenschr. 1900.)

7) Cesaris-Demel, Sulle cosiddette infezioni gassogene. (Atti R. Accad. med. di Torino. 1898.) — Di un nuovo caso di infezione gassogena. (Ibid. 1899.)

8) Rodella, Bakteriologischer Befund im Eiter eines gashaltigen Abscesses. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1903. p. 135.)

9) Schupfer, Di un nuovo bacillo anaerobio patogeno per l'uomo. (Policlinico. Sez. med. 1905.)

10) Anzilotti, Contributo allo studio dell'etiologia del flemmone enfisematico. (La Clinica chirurg. 1905.)

11) Gaudiani, Dell'importanza etiologica del bacillo di Welch-Fränkel. (Ann. d'Ig. sperim. 1908.)

12) Herrn Prof. Di Vestea, Direktor des Hygienischen Instituts, und dessen Assistenten, meinem Freund Dr. Neri, spreche ich hier den herzlichsten Dank aus für die freundlichen Ratschläge, mit denen sie mir stets bereitwilligst entgegenkamen.

Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

ratorium der chirurgischen Klinik fort. Obwohl ich eine große Anzahl von eiterigen Läsionen studiert habe, darunter einige mit fötid-gangränösem Charakter, ist der den Gegenstand der vorliegenden Arbeit bildende Fall (faulig-eiterige Pleuritis) der einzige, in dem ich bisher ein positives Resultat erhalten habe. Der Fall ist in vieler Hinsicht interessant, und ich habe deshalb mehrere Monate anhaltender Arbeit darauf verwendet.

Bevor ich die betreffende Krankengeschichte mitteile, halte ich es für zweckmäßig, einen Ueberblick über die wenigen Arbeiten zu geben, die sich in der Literatur über die Bakteriologie der putriden Pleuritiden finden.

Die fauligen Pleuritiden sind mehr nach der klinischen als nach der bakteriologischen Seite studiert worden, und zwar aus der vorgefaßten Meinung heraus, es sei die Putridität eine sekundäre Erscheinung, eine Komplikation der gewöhnlichen eiterigen Pleuritiden durch das Eindringen von banalen als „Saprophyten oder Fäulnisbakterien" bezeichneten Keimen, die zu studieren sich nicht der Mühe lohnte. Die Möglichkeit, daß die genannten Keime primär eine Pleuraeiterung verursachen könnten, wurde lange Zeit hindurch ausgeschlossen.

Im Jahre 1863 hatten Biermer[1]) und nach ihm Senator[2]), Oppolzer[3]) beobachtet, daß in den abgeschlossenen Pleuraexsudaten unter dem Einfluß der Mikroorganismen sich Gase entwickeln können, nichts aber haben diese Autoren über die Natur der genannten Keime berichtet.

Zwei Monographieen klinischen Charakters veröffentlichte A. Fraenkel[4]) in den Jahren 1877 und 1879 über die Pleuritiden. Die putride Pleuritis definierte er als den gangränösen Zustand oder die gangränöse Umbildung eines Pleuraexsudats, welche durch oder ohne Kommunikation des Exsudats mit den Bronchien oder der äußeren Luft eintreten kann. Wenn das Exsudat weder nach außen noch mit den Bronchien kommuniziert, ist das ätiologische Moment stets ein Lungengangränherd. Nach Fraenkel müssen außer dem von ihm für das spezifische Agens der Fäulnis gehaltenen Bacterium termo noch andere Keime bei der Erzeugung der putriden Pleuritiden eingreifen.

Jakowski[5]) fand unter 52 bakteriologisch untersuchten Pleuritisfällen nur einen, der die Eigenschaften der Putridität zeigte, und zwar hing derselbe mit Lungengangrän zusammen. Interessant ist die Bemerkung, die Verf. über diesen Fall macht, nämlich „daß das Exsudat keine lebensfähigen Bakterien enthielt, während man a priori annehmen mußte, daß ein so fötides Exsudat zahlreiche Fäulniserreger enthalten mußte". Wie Guillemot, Hallé, Rist mit Recht bemerken, scheint aus dieser Behauptung hervorzugehen, daß Jakowski Keime bei der mikroskopischen Untersuchung gesehen hat, die Kulturen aber steril geblieben sind.

Renvers[6]) fand 1889 bei putriden Pleuritiden Staphylokokken und pyogene Streptokokken.

1) Biermer, zit. bei Guillemot, Hallé, Rist, Arch. de méd. expér. 1904.
2) Senator, zit. bei den nämlichen Autoren.
3) Oppolzer, ebenda.
4) Fraenkel, A., ebenda.
5) Jakowski, ebenda.
6) Renvers, ebenda.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Rosenbach führt 1894 in dem Kapitel über die putriden Pleuritiden (Handbuch von Nothnagel) keinerlei bakteriologischen Befund auf, sondern beschränkt sich, auf den Fall von Jakowski sich stützend, auf die Bemerkung, daß die Mikroben fehlen können und daß die spontane (amikrobische) Zersetzung einer eiweißreichen Flüssigkeit nicht für unmöglich gehalten werden darf.

Im Jahre 1893 fand Netter[1]) bei einer wichtigen bakteriologischen Untersuchung über 20 Fälle von putrider Pleuritis im Zustand der Reinheit oder in großem Uebergewicht 3mal den Loefflerschen Rinderdiphtheriebacillus, 2mal die Spirochaete denticola, 1mal das Bacterium coli, 1mal Leptothrix. Bei den übrigen Beobachtungen fand sich eine große Menge von Stäbchen oder Fäden vergesellschaftet 1mal mit dem Tetragenus, 1mal mit Actinomyces, 4mal mit Streptococcus pyogenes, 3mal mit Staphylococcus. Netter hebt die Bedeutung hervor, welche bei der Produktion dieser Pleuritiden die gewöhnlichen Gäste des Mundes und der Verdauungswege besitzen. Durch Einbringung eines Tropfens Speichel in die Pleura, sagt er, haben wir häufig denen der gangränösen Pleuritis ähnliche Pleuraalterationen erhalten.

1895 berichtete Levy[2]) über eine Beobachtung eines Tuberkulösen, welcher, an seröser Pleuritis leidend, plötzlich die Symptome des Pneumothorax darbot (es waren zuvor mehrere Probepunktionen gemacht worden). Der Kranke starb und bei der Sektion wurde Kontinuitätstrennung der visceralen Pleura gefunden. Aus der Pleuraflüssigkeit, die jedoch nicht fötid war, wurde in anaëroben Medien ein Mikroorganismus gezüchtet, der als Bacillus der emphysematösen Phlegmone von Fraenkel identifiziert wurde. Die Beobachtung ist unvollständig, denn der Verf. spricht weder von aëroben Kulturen noch von der mikroskopischen Untersuchung des Exsudats.

Im Jahre 1897 veröffentlichten Roger und Comte[3]) einen Fall von putrider Pleuritis konsekutiv auf Rubeola bei einem Individuum, das eine Enteritis mit Hepatitis und Perihepatitis durchgemacht hatte. In dem Exsudat fanden sich zahlreiche Keime, Mikrokokken, Streptokokken, Bacillen von verschiedener Form und Größe. In Anbetracht der großen Anzahl Bakterienformen versuchten die Autoren nicht deren Isolierung, sondern verimpften das Exsudat in Tiere, aus denen sie zwei Keime gewannen, welche nicht anaërob waren: Der eine tötete das Kaninchen rasch und glich dem Hühnercholerabacillus, der andere war eine Varietät des Bacterium coli. Die Einimpfung der erwähnten Keime reproduzierte die Pleuritis mit den falschen grünlichen Membranen, das Exsudat stank aber nur wenig, weshalb die Autoren zu dem Schlusse kamen, daß die isolierten Bakterien nicht die Erreger der Fäulnis der Flüssigkeit waren, sondern daß diese auf Saprophyten zurückgeführt werden mußte.

In demselben Jahre teilten Widal und Nobécourt[4]) in der Soc. méd. des hôpitaux zu Paris einen Fall von putridem Empyem, unabhängig von gangränöser Läsion der Lunge und der Pleura, mit: Eine subkutane

1) Netter, Pleuriti putride, in Trattato di Medicina di Charcot, Bouchard, Brissaud.

2) Levy, Ueber den Pneumothorax ohne Perforation. (Arch. f. exper. Pathol. 1895.)

3) Roger et Comte, zit. bei Guillemot, Hallé, Rist.

4) Widal et Nobécourt, zit. bei Guillemot, Hallé, Rist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gasphlegmone hatte sich um die Stelle herum entwickelt, an der eine Probepunktion gemacht worden war. Verschiedenartige Kokken und Stäbchen im Exsudat. Aus den aëroben Kulturen erzielten sie einige Kolonieen des Staphylococcus aureus, aus den anaëroben Kokken und Stäbchen, welche nicht isoliert werden konnten. Die Einimpfung des Exsudats in das Meerschweinchen erzeugte einen Gas- und gangränösen Absceß, aus dem der Proteus vulgaris kultiviert wurde.

Im Jahre 1898 berichtet Welcke[1]) über eine Beobachtung eines putriden Empyems, das punktiert worden war und sich spontan in die Bronchien geöffnet hatte. In dem Exsudat wurden neben zahlreichen kurzen, unbeweglichen Stäbchen ein großes bewegliches Spirillum gesehen. Aus den Kulturen erhielt Verf. einen Streptococcus, von dem bei der mikroskopischen Untersuchung nicht die Rede ist. Der Streptococcus allein war nach dem Verf. das pathogene Agens. Das Spirillum mußte sekundär durch die Luftwege in die Pleura gelangt sein.

In demselben Jahre veröffentlicht Courmont[2]) einen Fall von putrider gasförmiger Pleuritis, die mit Pleurotomie behandelt wurde. Entsprechend der operativen Inzision bildete sich eine Gasphlegmone. Der Kranke kam zum Exitus und bei der Sektion wurde Abwesenheit von Lungenläsionen, serös-fibrinöse Pericarditis gefunden. Aus der Pericarditisflüssigkeit wurde der Streptococcus, aus dem Pleuraexsudat ein Staphylococcus, ein Streptococcus und ein Aërobe isoliert, der in sämtlichen Böden wuchs und die Gelatine nicht verflüssigte. Während nun der Pleuraeiter, in das Unterhautzellgewebe der Kaninchen eingeimpft, einen Gasabsceß produzierte, erzeugten die drei Mikroben weder Gas noch Absceß.

In einem Falle von Pyopneumothorax fand Cassaët[3]) Staphylokokken, Streptokokken und nicht gekapselte voluminöse Diplokokken in Form des Tetragenus. Verf. scheint weder Kulturen noch Einimpfungen vorgenommen zu haben.

May und Gebhard[4]) berichteten 1898 über einen Fall von Pneumothorax, hervorgerufen durch gaserzeugende Bakterien, die jedoch nicht untersucht werden konnten.

Hamilton[5]) veröffentlicht einen ähnlichen Fall, aus dem der Bacillus aërogenes capsulatus isoliert wurde.

Finley[6]) fand ein Jahr darauf bei einem Pyopneumothorax eines Tuberkulösen den Colibacillus.

Flexner und Harris[7]) beobachteten in einem Falle von Eberthscher Septikämie ohne Darmlokalisationen einen Pyopneumothorax, konsekutiv auf Perforation eines Lungengangränherdes durch Thrombose der Arteria pulmonaris. Die Autoren fanden den Typhusbacillus in den Lungen, der Milz, der Leber und den Nieren, untersuchten aber nicht das Pleuraexsudat, das sehr fötid war.

---

1) Welcke, Ueber eine bisher nicht beobachtete Art von Parasiten in jauchigem Pleuraexsudat. (München. med. Wochenschr. 1898.)

2) Courmont, Rôle des associations microbiennes dans les pleurésies putrides. (4e Congr. franç. de méd. Montpellier. 1898.)

3) Cassaët, zit. bei Guillemot, Hallé, Rist.

4) May u. Gebhard, Pneumothorax durch gasbildende Bakterien. (Arch. f. klin. Med. 1898.)

5) Hamilton, zit. bei Guillemot, Hallé, Rist.

6) Finley, zit. bei den nämlichen Autoren.

7) Flexner u. Harris, ebenda.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In einer umfangreichen und relativ neuen Abhandlung von Emerson[1]) (1903) über den Pneumothorax werden mehrere Fälle von putrider Pleuritis erwähnt, es wird aber kein bakteriologischer Befund mitgeteilt.

Aus dem Ueberblick, den wir bisher über die Arbeiten über putride Pleuritiden gegeben haben, ergibt sich, daß kein Fall nach der bakteriologischen Seite hin erschöpfend beschrieben worden ist. Bei einigen fehlt die mikroskopische Untersuchung des Exsudats und es ist deshalb ein Vergleich der in demselben enthaltenen Bakterienarten mit den aus den Kulturen erhaltenen unmöglich. Bei anderen Beobachtungen sind die anaëroben Kulturen unterlassen worden, bei einigen ist weder von den aëroben Kulturen noch von der mikroskopischen Untersuchung des Eiters die Rede, bei anderen wurden mehrere Keime nicht isoliert, die bei der mikroskopischen Untersuchung beobachtet wurden.

Das Verdienst, bakteriologische Untersuchungen über die putriden Pleuritiden angestellt zu haben, kommt Guillemot, Hallé und Rist zu.

Rist[2]) veröffentlichte 1898 (im Verein mit Rendu) 3 Fälle und wies die große Wichtigkeit der streng anaëroben Keime nach. Ein 4. Fall wurde 1901 von Rist selbst im Verein mit Barth veröffentlicht, ein 5. von Hallé und Guillemot[3]) im Jahre 1902/03.

Guillemot, Hallé und Rist[4]) kehrten im darauffolgenden Jahre auf den Gegenstand zurück und brachten einen größeren Beitrag. In einer wichtigen Abhandlung stellten sie 13 Fälle zusammen, in die jedoch die 5 vorerwähnten eingeschlossen sind, und studierten das Argument experimentell in erschöpfender Weise.

Schließlich erwähne ich einen durch Lorrain[5]) untersuchten Fall von putrider Pleuritis, bei dem ein Aërobe, der als Pyocyaneus identifiziert wurde, und ein Anaërobe mit den Charakteren des Bac. ramosus isoliert wurde: Ein anaërober Coccus konnte nicht isoliert werden.

Ebenfalls zu erwähnen ist ein durch Dieulafoy[6]) in seinem Aufsatz über putride Pleuritiden mitgeteilter Fall. Bei einer jungen Frau, die kurze Zeit vorher wegen Fibroma uteri und beiderseitiger Salpingitis mit Hystero-Adnexektomie operiert worden war, beobachtete er eine putride Pleuritis nach Vereiterung des Fundus vaginae, die durch einen zur Blutstillung eingelegten und vergessenen Gazetampon bedingt war. Die bakteriologische Untersuchung wurde durch Apert ausgeführt. Durch aërobe Kulturen fand er in dem Scheiden- und Pleuraeiter spärliche Kolonieen eines Streptococcus mit unregelmäßigen Körnern, durch die anaëroben einen Coccobacillus und einen feinen Coccus in Haufen. Die Eigenschaften, welche Apert von diesen Keimen gibt, sind zu spärlich für eine sichere Identifizierung. Von der mikroskopischen Untersuchung ist nicht die Rede. Die Kranke hatte auch stinkenden Auswurf (putrider Lungenherd), aus dem die gleichen Keime neben wenigen

1) Emerson, ebenda.

2) Rist et Rendu, Étude clin. et bactériol. sur trois cas de pleurésie putride. (Bull. et mém. soc. méd. d. hôpit. de Paris. 1898.)

3) Hallé et Guillemot, Un cas de pleurésie monomicrobienne. (Bull. Soc. de péd. 1903.)

4) Guillemot, Hallé et Rist, Recherches bact. et expérim. sur les pleurésies putrides. (Arch. de méd. expér. 1904.)

5) Lorrain, Étude bactér. d'un cas de pleur. putride. (Arch. de méd. expér. 1902.)

6) Dieulafoy, Les pleurésies ozéneuses. (Sem. méd. 1900.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kolonieen des Staphylococcus aureus und einem großen Ferment gewonnen wurden. Pat. kam durch Operation zur Heilung.

Obwohl sich nicht auf den Menschen beziehend, ist auch noch an eine Beobachtung von Fuchs[1]) (1890) zu erinnern, welcher in dem Eiter einer Pleuritis eines spontan eingegangen Kaninchens einen anaëroben Bacillus fand.

Wir kommen nun zur Krankengeschichte unseres Falles:

L. A., 14 Jahre alt, Schüler, aus Calci, Eintritt in die Klinik am 25. März 1909. Keine hereditäre Krankheit. Im Alter von 6 Jahren erkrankte er an Masern, während der Rekonvaleszenz hatte er eine linke Mittelohrentzündung mit nachfolgender Mastoiditis. Er wurde mit antiseptischen intraaurikulären Irrigationen und warmen Einpackungen an der Gegend des Warzenfortsatzes behandelt. In kurzer Zeit trat eine bedeutende Besserung ein, der Ohrenausfluß hat sich aber in verschiedenen Zeitabständen immer wieder eingefunden.

Am 4. Febr. 1909, d. h. 50 Tage vor seinem Eintritt in die Klinik wurde er von hohem Fieber mit Schüttelfrost und heftigem Schmerz am linken Ohr befallen. Der Schmerz verschwand am Tage darauf, die Temperatur aber hielt sich weitere 10 Tage hoch. Am Abend des 18. Febr. trat ein heftiger Schmerz an der Basis des rechten Thorax und erneute Temperatursteigerung auf. Nach einer Woche hörte der Schmerz auf und das Fieber nahm ab. Am 5. März stechender Schmerz an der Basis des linken Thorax mit neuem und stärkerem Temperaturanstieg. Es trat Husten mit spärlichem Auswurf auf. Der Schmerz dauerte ca. 8 Tage, während Husten und Fieber persistierten. In diesem Zustand wurde er nach der medizinischen Klinik gebracht, von wo er am 25. März mit der Diagnose einer linksseitigen Pleuritis in unsere Klinik verlegt wurde.

Bei der allgemeinen Untersuchung wird gefunden: Jüngling mit gracilem Körperbau, stark heruntergekommen, Knochengerüst regelmäßig, Muskulatur wenig kräftig, Fettpolster spärlich, Schleimhäute und Haut blaß, Temperatur 37,7, Puls 130, Atmung 40. Der Kranke erweitert beim Einatmen die Nasenflügel. Sensorium intakt, nichts an dem Zirkulations-, Verdauungs- und Harnapparat.

Bei der Untersuchung des Teiles wird gefunden: Linksseitiger Thorax in seiner unteren Hälfte weiter, dehnt sich weniger aus als die entgegengesetzte Hälfte. Die Perkussion gibt hellen Lungenschall rechts außer an der Basis, wo eine leichte Hypophonese besteht. Links hinten findet sich eine Dämpfungszone, welche gleich unter dem Schulterblattwinkel beginnt und nach unten bis an die Basis verfolgt wird; seitlich und vorn klarer Lungenschall, Traubescher Raum frei, die Dämpfung verschiebt sich nicht beim Wechseln der Körperlage. Bei der Auskultation findet sich rechts normales Blasengeräusch und etwas Pleurareiben an der Basis. Links hinten respiratorisches Schweigen entsprechend der Dämpfungszone.

Untersuchung des linken Ohres. Geringe stinkend eitrige Sekretion des äußeren Gehörganges. Trommelfell perforiert: Es besteht weder Anschwellung noch Rötung des Warzenfortsatzes. Bei der Palpation ist die Spitze desselben schmerzhaft. Hörschärfe verringert. Nichts seitens des Facialis. Rechtes Ohr normal.

Calmettesche Ophthalmoreaktion negativ.

Operation (ausgeführt am 27. März 1909 von Prof. Cassanello). Sauerstoff-chloroformnarkose. Inzision parallel zum achten linken Zwischenrippenraum von der Scapularis bis an die vordere Axillaris. Subperiostale Resektion eines ca. 10 cm langen Stückes der 7. und 8. Rippe. Ligatur der Intercostalarterien. Nach Inzision der Pleura entleert sich reichlich recht wenig dicker Eiter, untermischt mit einer mäßigen Menge Gas, außerordentlich stinkend (Fäulnisgestank), von schmutzig gelblicher Farbe. Die nämlichen Eigenschaften hatte der 2 Tage zuvor durch eine Probepunktion, die in der medizinischen Klinik gemacht worden war, extrahierte Eiter. Die endopleurale Ansammlung ist abgesackt und liegt hinten seitlich. Die Lunge ist nach innen vorn gedrängt und zeigt auf ihrer Oberfläche keinerlei Veränderung. Erweiterung der Oeffnung. Tamponade mit Wasserstoffsuperoxydgaze.

Der postoperative Verlauf war regelmäßig. Die Fiebertemperatur hört gleich nach der Operation vollständig auf; in kurzer Zeit bedeckt sich die Abszeßhöhle mit guten Granulationen, und nach einem Aufenhalt von 31 Tagen wird Pat. fast vollkommen geheilt aus der Klinik entlassen.

Die geringe Sekretion des linken Ohres, welche Pat. bei seinem Eintritt in die Klinik zeigte, hörte in wenigen Tagen durch endoaurikuläre Irrigationen von Natriumborat mit Wasserstoffsuperoxyd auf.

1) Fuchs, Ein anaërober Eiterungserreger. [Inaug.-Diss.] Greifswald 1890.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mikroskopische Untersuchung des Eiters.

Der Eiter wurde im Moment der Operation mit allen Vorsichtsmaßregeln in einem sterilisierten, mit einer durch seinen Stopfen gehenden Saugpipette versehenen Reagensglase gesammelt. Mit ihm werden zahlreiche Deckgläschen hergestellt, welche an der Flamme fixiert werden. Gefärbt werden sie mit der einfachen Methode (Loefflersches Blau, Ziehlsches Fuchsin) und mit der Gram-Methode. Einige Gläschen werden für die Färbung der Kapseln und Sporen aufbewahrt.

Sowohl in den mit der einfachen Methode wie in den mit Gram hergestellten Päparaten wird gefunden, daß der Eiter eine Infinität von Keimen enthält, aber frei von morphologischen Elementen ist: Es müssen

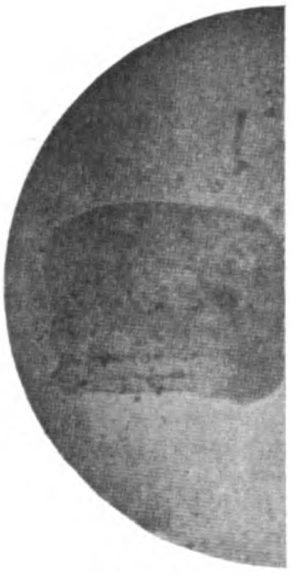


Fig. 1.

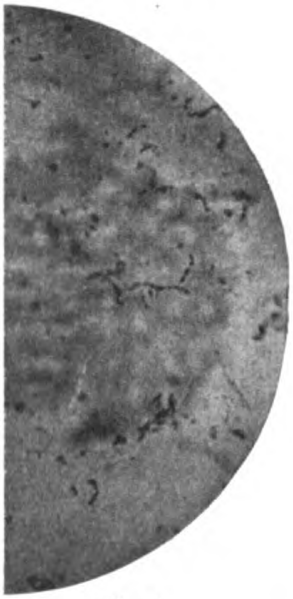


Fig. 2.

Fig. 1. Mikrophotographie, in der Bakterienkettchen (Bacillen und Coccobacillen) gesehen werden. Mit der Gram-Methode gefärbtes Eiterpräparat.

Fig. 2. Mikrophotographie, in der wenige, aber deutlich isolierte oder diploartige Bacillen gesehen werden. Aus einer Glykosebouillonkultur nach Gruber. (In diesem Boden verliert der Keim die Eigenschaft, sich zu Ketten zu ordnen.) Färbung mit Loeffler.

zahlreiche Mikroskopfelder untersucht werden, um einige mehr oder weniger alterierte Eiterkörperchen zu finden. Der Eiter ist geradezu eine Bakterienemulsion. Die vergleichende Untersuchung der mit der einfachen Methode und mit Gram gefärbten Präparate zeigt in den einen und den anderen dieselben Bakterienformen, und zwar in demselben Maße. Alle Keime sind demnach grambeständig. Säurebeständige Keime sind nicht vorhanden.

Die Keime bestehen aus kurzen, plumpen Bacillen mit abgerundeten Enden, bald isoliert, bald diplo- oder streptobacillenartig gruppiert, bald zu kleinen unregelmäßigen Haufen vereinigt. Zuweilen sieht man Gruppen von zwei V-förmig vereinten Bacillen. Die Ketten sind äußerst zahlreich und bestehen aus mehreren Bacillen von 4—5 bis zu 12—15. Einige an den Ketten beteiligte oder auch nicht beteiligte Elemente sind äußerst

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kurz und verdienen eher den Namen Coccobacillen: Die Länge schwankt zwischen 1—1,50 μ, die Dicke zwischen 0,80—1,20 μ, der ganze Bacillenleib färbt sich gleichförmig. Kein Keim hat keulenartige Form. Die Färbung der Kapseln und Sporen ist negativ.

Angesichts der Anwesenheit von deutlich bacillären Formen und von Coccobacillen gibt die mikroskopische Untersuchung nicht die volle Sicherheit, daß der Eiter einen einzigen Keim enthält.

Kulturen.

Der äußerst fötide Charakter des Eiters, die Mischung desselben mit Gasen überzeugte uns von der Notwendigkeit möglichst vollständig außer den aëroben, die anaëroben Kulturen vorzunehmen.

Aërobe Kulturen des Eiters.

Es wurden Kulturen in festen Böden zwecks Isolierung vorgenommen.

1) Strichkulturen in einfachem klarinettschnabelförmigen Agar (3 Röhrchen).

2) Strichkulturen in klarinettschnabelförmigem Glyzerinagar (3 Röhrchen).

3) Strichkulturen in klarinettschnabelförmigem Glykoseagar (3 Röhrchen).

4) Plattenstrichkulturen in Glyzerinagar.

5) In Gelatine (3 Platten, Schüttelkulturen).

Der Eiter wird auch in flüssigen Medien kultiviert, nämlich:

1) in einfacher Bouillon;

2) in Glykosebouillon $^1/_2$-proz.

Die aëroben Kulturen bleiben absolut steril: Die Beobachtung wurde auf 20 Tage ausgedehnt. Die Nährböden waren wiederholt in vorausgehenden bakteriologischen Untersuchungen kontrolliert worden und es war üppige Entwickelung mehrerer Keime erhalten worden, die ich aus anderen eitrigen Läsionen isoliert hatte (Coli-Bacillus, Staphylococcus, Streptococcus etc.)

Anaërobe Kulturen des Eiters.

1) Kulturen in Bouillon Tarozzi (2 Röhrchen: Je eine Oese Eiter): Der Nährboden war frisch (4 Tage vorher) mit Meerschweinchenleber bereitet worden und die 48 Stunden lang im Brutofen gehaltenen Reagenzgläser waren steril geblieben. In beiden Röhrchen hat man in der 24. Stunde eine ganz geringe Trübung der Bouillon: Nach 36 Std. deutliche Entwickelung. Nach 48 Stunden üppige Entwickelung (sehr starke Trübung). Beim Riechen an dem oberen Ende des Reagensglases gewahrt man auch ohne allzugroßes Heben des Stopfens einen Fäulnisgestank, der identisch ist mit dem, welchen der Eiter ausströmte. Im hängenden Tropfen werden zahlreiche isolierte oder wie im Eiter zu mehr oder weniger langen Ketten oder diploartig vereinte kurze, plumpe Bacillen mit unbeweglichen abgerundeten Enden ohne Kapsel beobachtet. Einige Bacillen sind so kurz, daß sie an die im Eiter angetroffenen Coccobacillen erinnern. Einige Bacillen zeigen an einem Ende etwas wie einen lichtbrechenden Punkt.

2) Isolierungskulturen in Röhrchen mit Glykoseagar $^1/_2$ Proz. in hoher Schicht. Es werden 3 je eine 8 cm hohe Agarsäule enthaltende Röhrchen genommen und im Wasserbad $^1/_4$ Stunde

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kochen gelassen, so daß die Luft aus dem Nährboden ausgetrieben wird. Wenn sie nach dem Kochen die Temperatur von 40° erreicht haben, wird in das erste eine Oese Eiter ausgesät und das Reagensglas in verschiedenen Richtungen bewegt, um ihn in der Agarmasse zu verteilen. Unterdessen wird durch ganz geringes Erwärmen dafür gesorgt, daß die Temperatur der anderen Röhrchen nicht unter 40° herabgeht, d. h. daß der Agar flüssig bleibt. Aus dem ersten Röhrchen werden 4 Oesen in das zweite gebracht: Verteilung wie oben. Aus dem zweiten Röhrchen kommen weitere 4 Oesen in das dritte und es wird wie vorher geschüttelt. Unmittelbar nach der Aussaat werden die Röhrchen eins nach dem anderen in Eiswasser getaucht. Sobald der Agar fest geworden ist, werden sie außen abgetrocknet und bei 37° in den Brutofen gebracht.

Erst am 3. Tage beginnt man eine Andeutung von Entwickelung zu sehen. In dem ersten Röhrchen sind in der homogenen Masse des Agar bei aufmerksamer Betrachtung unter einem gewissen Einfallen des Lichtes kaum feinste Pünktchen wahrnehmbar, welche man mit der Lupe besser sieht. Am 4. Tage ist die Entwickelung evident. In dem ersten Röhrchen sind die Kolonieen zahlreich, äußerst dicht, fast zusammenfließend. Ungefähr in der Hälfte der Agarsäure treten am fünften Tage kleine Gasbläschen in der Höhe von $^1/_2$ cm auf: Diese fehlen in den anderen Röhrchen, wo die Kolonieen weniger zahlreich sind. In dem dritten Röhrchen betragen sie kaum dreißig und sind gut voneinander entfernt.

Die wichtigste Erscheinung, welche bei der ersten Untersuchung der Röhrchen bemerkt wird, ist das absolute Fehlen von Kolonieen in dem oberen Ende der Agarsäule auf einer Höhe von $1^1/_2$ cm; eine scharfe Linie trennt die Zone der Kolonieen (Zone der Anaërobiose) von der Zone der Aërobiose (s. Fig. 3).

Die Kolonieen haben nahezu die nämlichen Dimensionen und das nämliche Aussehen. Sie sind klein, da sie nicht über 0,8—1 mm Durchmesser erreichen. Zuerst sind sie von linsenartiger oder runder Form, gelblichweiß, mit regelmäßigen Rändern: Späterhin wird die Kontur unregelmäßig, so daß die Kolonie ein maulbeerartiges oder keilförmiges und zuweilen auch nagelförmiges Aussehen annimmt (Fig. 3).

Fig. 3. Reagensglas mit Glykoseagar (anaërobe Schüttelkultur nach Liborius). In dem oberen Abschnitt der Agarsäule ($1^1/_2$ cm) nicht eine Kolonie (Zone der Aërobiose). Die Zone der Aërobiose ist von der darunter befindlichen Zone der Anaërobiose scharf abgegrenzt.

Am 3. April (d. h. am 7. Tage) wird zur Ueberpflanzung der Kolonieen des dritten Röhrchens geschritten, welche, wie erwähnt, gut voneinander entfernt waren, und zwar um zu sehen, ob jede Kolonie rein ist oder nicht und ob alle einem und demselben Keim angehören, um eventuell zu neuen Isolierungen zu schreiten. In der Tat ist gesagt worden, daß sowohl die mikroskopische Untersuchung wie die Untersuchung im hängenden Tropfen der Kulturen in Bouillon Tarozzi über die Einheitlichkeit des Keimes im Zweifel ließen, da neben den Bacillen cocco-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bacilläre Formen bestehen. Aber wenn auch andererseits die eine und die andere Untersuchung nachgewiesen hätten, daß die Keime morphologisch nur von einer Species waren, so war doch die Isolierung gleichfalls nötig, weil Keime mit den nämlichen morphologischen Charakteren in ihren kulturellen und biologischen Eigenschaften vollkommen verschieden sein können.

Das dritte Röhrchen wird auf der Außenfläche sorgfältig mit Alkohol und Aether und Sublimat desinfiziert und mit sterilisiertem Wasser abgewaschen, dann mit aseptischer Gaze umwickelt und durchgeschlagen. Mittels an der Flamme sterilisierter und abgekühlter Zangen wird die Agarsäule rasch in eine sterilisierte, weite und $1^1/_2$ cm hohe Petri-Schale gebracht. Darauf wird, während ein Gehilfe den Deckel auf der einen Seite aufhebt, die Agarsäule mit einem an der Flamme sterilisierten Messer in dünne Schnitte geschnitten, wobei man bedacht war, mit dem Messer die Kolonieen zu vermeiden und bei jedem Schnitt das Messer von neuem zu sterilisieren. Darauf wird an das Abheben der Kolonieen mit einer Platinnadel und an die Aussaat geschritten.

Es werden so 8 Röhrchen mit Bouillon Tarozzi, 8 Röhrchen mit Glykoseagar für anaërobe Kulturen im Vakuum nach Gruber besät. Darauf wird eine rasche Untersuchung einiger übrig gebliebener Kolonieen im hängenden Tropfen gemacht, und da in allen die gewöhnlichen Bacillen und coccobacillären Formen angetroffen werden, werden 2 Kolonieen einer neuen Isolierung mit dem früheren Verfahren und zwei weitere Kolonieen mit dem Plattenverfahren nach Marino[1]) unterzogen. Im ganzen werden 20 Kolonieen überpflanzt. Die Untersuchung der Kulturen Tarozzi, der Kulturen im Vakuum, der durch die neue Isolierung der 4 Kolonieen erhaltenen Kulturen zeigte übereinstimmend, daß der Keim ein einziger war, denn in sämtlichen Kolonieen fand sich die bacilläre Form und die coccobacilläre Form. Es handelte sich demnach um geringe Größenschwankungen eines und desselben Keimes. Eine dritte Isolierung, die in einer großen Anzahl Röhrchen gemacht wurde, um eine aufs höchste getriebene Verdünnung zu erhalten, gab das nämliche Resultat.

Kulturen des isolierten Keimes.

1) Kulturen in Bouillon Tarozzi bei 37°. Die Charaktere des Keimes in diesen Kulturen sind die bereits bei den Kulturen des Eiters in dem nämlichen Medium beschriebenen. Dieser Kulturen bedienten wir uns in weitem Maßstabe für das Studium des Keimes, zunächst weil die Entwickelung, wie wir sehen werden, eine üppigere und raschere war als bei anderen Substraten, da sie sich nicht über 24 bis 36 Stunden verzögerte, und dann wegen seiner Bequemlichkeit. Der Keim blieb 12—14 Tage lebensfähig. Der Gestank, den die Kultur ausströmte, war intensiv am 2. und 3. Tage und nahm dann nach und nach ab, bis er am 10.—12. Tage wenig wahrnehmbar war. In den 10 bis 12 Tage alten Kulturen traten Entartungsformen auf, nämlich gekrümmte, an einem Ende dickere, stärker lichtbrechende Bacillen.

Bei Zimmertemperatur (15—20°) war die Entwickelung eine spätere, da sie erst am 4. Tage, und zwar weniger üppig begann. Der Foetor fehlte nicht.

2) Vakuumkulturen nach Gruber in Glykosebouillon $^1/_2$-proz. Die Bouillon wurde in gewöhnliche Reagensgläser verteilt und

1) Der Nährboden (Glykoseagar) enthielt jedoch kein Serum.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

diese kurz vor der Einsaat in der Weise sterilisiert, daß das Medium im Moment der Herstellung des Vakuums eine gewisse Temperatur hatte.

Die Reagensgläser wurden in ihrer Mitte an der Flamme gleich nach der Einsaat eingeengt und ausgezogen. Darauf wurde der über den Rand des Reagensglases vorstehende Teil des Pfropfens abgeschnitten und der Rest bis an die Verengerung getrieben: Die Mündung des Reagensglases konnte so auf die Quecksilberpumpe gesteckt werden. War das Vakuum erreicht, so wurde das Reagensglas entsprechend der Verengerung zugeschmolzen. Die Röhrchen wurden im Brutofen bei 37° gehalten. Die ersten Kulturen, d. h. die durch Verpflanzung von 8 Kolonieen der dritten Isolierröhre (s. oben) erhaltenen, entwickelten sich erst nach 6—7 Tagen.

Eine größere Verzögerung erlitt die Entwickelung der sukzessiven Kulturen, da sie nicht vor 9—12 und auch 14 Tagen eintrat. Wenn jedoch das eingesäte Material anstatt aus analogen Vakuumkulturen oder aus Agarkulturen aus Bouillonkulturen Tarozzi stammte, so war die Entwickelung eine frühzeitigere (am 4. Tage). Die Bouillon trübt sich gleichmäßig, es tritt keine Bildung von Flocken und Häutchen auf. Nach einigen Tagen sieht man auf dem Boden des Reagensglases einen feinen, ziemlich spärlichen Niederschlag und die Bouillon bleibt immer leicht trüb. Bei Oeffnung des Röhrchens gewahrt man den ekelerregenden Gestank, welchen der Eiter hatte. Im hängenden Tropfen zeigt der Keim die nämlichen Charaktere wie in der Bouillon Tarozzi, außer der Eigenschaft, sich streptobacillenartig anzuordnen. In der Tat sind die Kettchen äußerst selten und diese haben nicht mehr als 4—5 Elemente. Bei Verpflanzung aus dem Vakuum in Tarozzi-Röhrchen traten die durch zahlreiche Bacillen gebildeten Ketten wieder auf.

3) Vakuumkulturen nach Gruber in einfacher Bouillon. Dieselben blieben stets steril.

4) Schüttelkulturen in Glykoseagar in hoher Schicht (s. oben bei Isolierung).

5) Stichkulturen in Glykoseagar. Nach 10 Minuten langem Kochen der Agarröhrchen im Wasserbad und raschem Abkühlen in Eiswasser wird der Einstich mit aus Tarozzi-Bouillonkulturen stammendem Material vorgenommen. Darüber wird weiterer verflüssigter Agar gegossen: Erneutes Abkühlen. Die Röhrchen werden in den Brutschrank bei 37° gestellt. In einige Röhrchen wird anstatt Agar sterilisiertes Oel gebracht. Nach 24 Stunden hat man Entwickelung längs der ganzen Einstichlinie nach Art eines schleierartigen Keiles ohne seitliche Verzweigungen, transparent, mit der Basis nach oben, gebildet durch eine große Anzahl von Wellenlinien aus kleinsten, zusammenfließenden, nur mit Hilfe der Lupe sichtbaren Kolonieen. Der Agarpfropfen ist 3 cm weit über den Anfang des Einstiches zurückgedrängt. Nach 48 Stunden bemerkt man längs des Einstiches zahlreiche Gasblasen, welche den Agar fragmentieren. Bei Zimmertemperatur (10—20°) beginnt die Entwickelung gleichfalls bald, ist aber sehr kümmerlich. Gasentwickelung äußerst spärlich: Der Agarpfropfen ist nicht zurückgedrängt.

6) Stichkulturen in Glyzerinagarröhrchen. Bereitung der Röhrchen wie oben: Bei 37° auch in diesen Röhren Entwickelung nach 24 Stunden. Die Kultur zeigt sich mit den nämlichen Charakteren wie die vorausgehenden Kulturen. Die Gasentwickelung ist weniger reichlich: Einige Blasen längs des Stiches, der Agarpfropfen ist kaum ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schoben. Bei Zimmertemperatur weniger üppige Entwickelung wie bei den analogen Kulturen in Glykoseagar.

7) Glykoseagarplattenkulturen nach Marino (ohne Zusatz von Serum zu dem Nährboden). Die Entwickelung ist etwas kümmerlich (vielleicht wegen des Fehlens des Serums): Man erkennt sie kaum am 5. Tage. Mit bloßem Auge sind die Kolonieen kaum wahrnehmbar und zeigen sich als weißopake Pünktchen. Unter dem Mikroskop erscheinen die Kolonieen alle von der nämlichen Größe, haben eine weißopake Farbe, sind kernlos und bestehen gewissermaßen aus feinsten Plättchen oder Granulis. Die Kontur der Kolonie ist chagriniert, stachelig, so daß die Kolonie ein maulbeerförmiges oder igelartiges Aussehen annimmt (s. Fig. 4). Es besteht keine Gasentwickelung.

Fig. 4. Zahlreiche Kolonieen einer anaëroben Plattenkultur nach Marino, bei geringer Vergrößerung gesehen.

8) Glykoseagarplattenkulturen nach dem Verfahren von Bordet (d. h. in einem gewöhnlichen Exsikator gehalten, in dem das Vakuum hergestellt wurde und der Pyrogallussäure und Kaliumhydrat enthielt, die man nach Herstellung des Vakuums in Kontakt kommen ließ). Das Resultat war negativ, weil in Anbetracht des großen Gehaltes des zur Verfügung stehenden Gefäßes kein vollkommenes Vakuum erreicht werden konnte.

9) Milchkulturen in Röhrchen nach Gruber. Man bekommt Koagulation des Mediums am 5. Tage: In den folgenden Tagen schiebt sich oben eine Molkenschicht von dem Gerinnsel ab; dieses löst sich nicht wieder. Die Milch bekommt saure Reaktion. Im hängenden Tropfen zeigt sich der Keim nicht in Kettchen, sondern diploartig, oder in isolierten Bacillen.

10) Schüttel- und Stichkulturen in einfacher Gelatine, in Glykosegelatine 1–2 Proz. Die Röhrchen wurden bereitet wie die mit Glykoseagar. Trotz der wiederholten Aussaaten wurde nie Entwickelung erzielt. Da der Keim, obwohl kümmerlich, in anderen Medien bei 15—20° wuchs, konnte die ausgebliebene Entwickelung in Gelatine nicht von der Temperatur, sondern von der Natur des Bodens abhängen.

11) Vakuumkulturen auf einfacher Kartoffel und Glyzerinkartoffel. Dieselben blieben stets steril.

12) Versuche mit aëroben Kulturen des Keimes in den gewöhnlichen Nährböden. Ein erster Versuch wurde am 5. Mai (38 Tage nach der Operation) gemacht. Mit aus Tarozzi-Kulturen stammendem Material werden Kulturen in einfacher Bouillon, Glykose-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bouillon, einfachem Glyzerin, Glykoseagar gemacht. Die Kulturen bleiben durchaus steril. Am 22. Mai und am 27. Juni (3 Monate nach der Operation) wird der Versuch mit dem nämlichen Erfolg wiederholt. Eine ganz schwache Entwickelung wurde nur in einem Glykoseagarröhrchen durch Einstich erhalten. Am 22. Juni wurde in Röhrchen mit Blutagar eingesät, welche gleichfalls steril blieben.

Untersuchung der Kulturen auf Indol. Dieselbe wurde nach dem Verfahren von Crisafulli in den Glykosebouillonkulturen und in den Tarozzi-Bouillonkulturen gemacht. Resultat negativ.

Färbbarkeit des aus den Kulturen stammenden Keimes. Der Keim nimmt die gewöhnlichen Anilinfarben an. In bezug auf das Verhalten gegen Gram ist zu bemerken, was in den Präparaten des Eiters nicht beobachtet worden ist, daß die Passage in absolutem Alkohol kurz sein muß, weil bei längerer Entfärbung die Keime blaßblau werden und schließlich die Farbe verlieren. Zuweilen blieben auch hier nur wenige Elemente gut gefärbt.

Dieses Verhalten war ganz und gar nicht von dem Alter der Kultur abhängig, da es sowohl in den frischen Kulturen wie den einige Tage alten eintrat.

Die Färbung der Kapsel blieb auch in den Kulturen stets negativ. Ebenfalls negativ war die Färbung der Flimmergeißeln; der Keim war in der Tat unbeweglich, in welchem Medium er auch gezüchtet wurde.

Der Keim ist nicht säurebeständig.

Sporenbildung. Wir haben gesagt, daß die spezifische Färbung für die Sporen in den Präparaten des Eiters negativ war. In keinem Nährboden bildete der Bacillus Sporen. In der Bouillon Tarozzi zeigten, wie bereits erwähnt, einige Bacillen etwas wie einen lichtbrechenden Punkt an einem Ende, der jedoch, auch bei der Untersuchung im hängenden Tropfen, keine Sporencharaktere hatte. Immerhin wurde der größeren Sicherheit halber neben der spezifischen Färbung, die auch hier negativ war, zur Aussaat von etwas, 10 Minuten bei 80° gehaltener Kultur gegriffen. Es wurde keinerlei Entwickelung erzielt: Der Keim war demnach asporogen.

Pathogene Wirkung.

Zur Untersuchung des pathogenen Vermögens des Keimes haben wir uns 48 Stunden alter Tarozzi-Bouillonkulturen bedient, da diese die üppigste Entwickelung zeigten. Zuweilen benutzten wir auch Vakuumkulturen in Glykosebouillon, sobald diese die höchste Entwickelung erreicht hatten. Die Kulturen waren bald durch Verpflanzung des Keimes anderer Kulturen, bald durch Verimpfung der durch den Tierkörper (Pleurahöhle) geschickten Keime erhalten. Ich bemerke hier sogleich, daß die Passage des Keimes durch den Tierkörper sein pathogenes Vermögen nicht besonders erhöhte.

Die Einimpfungen wurden in die Pleura, das Peritoneum, das Unterhautzellgewebe vorgenommen.

Versuchstiere: Kaninchen und Meerschweinchen.

I. Einimpfungen in die Pleura.

1. Versuch. Kaninchen von ca. 1500 g Gewicht. Am 5. April, d. h. 9 Tage nach der Operation, wird ihm in die rechte Pleurahöhle 1 ccm Tarozzi-Bouillonkultur injiziert. Am folgenden Morgen zeigt das Kaninchen bedeutende Niedergeschlagenheit, sitzt zusammengekauert, verweigert die Nahrungsaufnahme, bewegt sich nicht einmal beim Anstacheln. Es geht am Abend 24 Stunden nach der Impfung zugrunde.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sektion: Die rechte Pleurahöhle enthält kein eitriges Exsudat, sondern nur eine ganz spärliche Menge serös-blutiger Flüssigkeit. Parietale und viscerale Pleura stark hyperämisch. Bläulich-rote Kongestionsflecke werden auf der konvexen und konkaven Fläche der rechten Lunge bemerkt. Weniger ausgesprochene Hyperämie in der linken Pleura. Nichts Besonderes im Peritoneum und in den Bauchorganen. Nieren kongest. Mit dem Herzblut werden aërobe und anaërobe Kulturen angestellt, welche steril bleiben. Aus der Pleurahöhle wird dagegen der injizierte Keim gezüchtet. Histologische Untersuchung: Die rechte Lunge zeigt eine starke Hyperämie, besonders den peripheren Zonen entsprechend. An einigen Stellen ist das Blut ausgetreten, nimmt die interlobulären Septen ein und füllt nicht selten die Alveolen aus. Nichts Besonderes seitens der Pleura. Bei Behandlung der mikroskopischen Schnitte mit Gram, verbunden mit einer Kontrastfärbung (Pikrokarmin) beobachtet man in den peripheren Schichten der Lunge, d. h. in dem subpleuralen Bindegewebe, Haufen von Bacillen, welche häufig kompakte, formlose Klumpen bilden, in denen die einzelnen Individuen nicht unterscheidbar sind. Die morphologischen Eigenschaften der Bacillen sind diejenigen des eingeimpften Keimes. Auch hier verblassen bei längerer Entfärbung die Bacillen, obwohl weniger stark als in den aus den Kulturen stammenden Präparaten. Die Bacillen müssen in das subpleurale Bindegewebe durch die Stomata der Pleura eingedrungen sein. Leber, Milz, Niere zeigen die Merkmale der Hyperämie, enthalten aber keine Bacillen.

2. Versuch. Meerschweinchen von 450 g Gewicht. Am 5. April Einimpfung von $^1/_2$ ccm Tarozzi-Kultur in die rechte Pleura. Am folgenden Tage zeigt es dieselben Erscheinungen, wie das vorstehende Kaninchen. Exitus nach 36 Stunden. Sektion: Rechte parietale und viscerale Pleura hyperämisch; äußerst geringe Menge blutiger Flüssigkeit in der costovertebralen Rinne. Multiple rotviolette Flecken auf der Lungenoberfläche. Links leichte Hyperämie der Pleura und Lunge. Nichts Besonderes bei Untersuchung der Bauchorgane. Kulturen des Herzblutes steril. Die Kulturen mit der serös-blutigen Pleuraflüssigkeit sind positiv für den injizierten Keim (Fäulnisgestank) und durch einen großen Coccus verunreinigt. Die histologische Untersuchung der Lungen-, Nieren-, Leber-, Milzstücke gibt dasselbe Resultat wie bei dem vorausgehenden Versuch.

3. Versuch. Kaninchen von 1600 g Gewicht. Am 17. April (20 Tage nach der Operation) erhält es in die rechte Pleura 2 ccm Tarozzi-Bouillonkultur. Vorübergehende Niedergeschlagenheit von der Dauer von 2 Tagen. Am 27. April wird es getötet (Stich in die Medulla oblongata). Bei der Sektion wird in der Pleurahöhle weder Exsudat noch Verwachsungen gefunden. Nichts von Belang an den übrigen Organen. Kulturen des Herzblutes steril. Gleichfalls steril bleiben die Kulturen mit der Serosität der Lungenoberfläche.

4. Versuch. Meerschweinchen von 430 g Gewicht. Einimpfung von 1 ccm der gewöhnlichen Kultur in die rechte Pleura (17. April). Vorübergehende Niedergeschlagenheit. Es wird am 27. April durch Stich in die Medulla oblongata getötet. Bei der Sektion der nämliche Befund wie bei dem vorausgehenden Versuch. Kulturen des Herzblutes und der Pleuraserosität steril.

5. Versuch. Kaninchen von 1800 g Gewicht. Am 24. April Einimpfung von $2^1/_2$ ccm Tarozzi-Kultur in die rechte Pleura. In den ersten 3—4 Tagen bedeutende Niedergeschlagenheit, dann erholt es sich nach und nach. 2 Wochen nach der Einimpfung wird es getötet. Sektionsbefunde, Kulturen des Herzblutes und der Pleuraserosität wie oben.

6. Versuch. Meerschweinchen von 500 g Gewicht. Am 25. April Einimpfung von 2 ccm Kultur in die rechte Pleurahöhle. 4 Stunden nach der Einimpfung zeigt sich das Meerschweinchen niedergeschlagen, stumpf. Am folgenden Morgen wird es tot aufgefunden. Sektion: In der rechten Pleurahöhle spärliche blutige Flüssigkeit. Sehr starke Hyperämie der visceralen und parietalen Pleura. Starke Hyperämie der Nieren. Nichts bei Untersuchung der Bauchorgane. Herzblut steril. Kulturen der Pleuraflüssigkeit positiv, aber durch einen äußerst beweglichen Bacillus verunreinigt. Histologische Untersuchung der Lunge, Leber, Niere, Milz wie bei den Versuchen 1 und 2.

7. Versuch. Kaninchen von 1700 g Gewicht. Am 29. April erhält es in die rechte Pleura 3 ccm einer Vakuumkultur in Glykosebouillon. Das Tier zeigt keinerlei besondere Erscheinung, nicht einmal jene vorübergehende Niedergeschlagenheit, welche bei den Versuchen 3, 4, 5 beobachtet wurde.

8. Versuch. Meerschweinchen von 430 g Gewicht. Am 29. April werden ihm 2 ccm Vakuumkultur in Glykosebouillon injiziert. Keine besondere Erscheinung.

9. Versuch. Kaninchen von 1600 g Gewicht. Am 8. Mai Einimpfung von 3 ccm Tarozzi-Bouillonkultur in die rechte Pleura. Es geht am 10. Mai unter den Erscheinungen des Kaninchens des 1. Versuches ein. Sektion: Nach Entblößung des Brustkorbes von den Weichteilen sieht man, daß die rechte Hälfte etwas mehr ausgedehnt ist als die linke. Bei Eröffnung der Brusthöhle findet sich in der rechten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Pleura spärliche trübblutige Flüssigkeit. Starke Hyperämie der parietalen und visceralen Pleura. In der Bauchhöhle spärliche zitronengelbe Flüssigkeit. Nieren kongest. Milz leicht geschwollen. Leber mit Coccidien affiziert. Durch die Kulturen der Pleuraflüssigkeit wird der injizierte Keim gewonnen: Negativ die des Herzblutes. Histologische Untersuchung der Lunge, Leber, Niere, Milz wie beim 1. Versuch.

10. Versuch. Meerschweinchen von 460 g Gewicht. Am 8. Mai Einimpfung von 2 ccm der nämlichen dem vorstehenden Kaninchen injizierten Kultur in die rechte Pleura. Vorübergehende Niedergeschlagenheit.

11. Versuch. Kaninchen von 1650 g Gewicht. Einimpfung am 24. Mai von 3 ccm Tarozzi-Kultur. Am Tage darauf ist das Kaninchen apathisch, sitzt zusammengekauert und frißt wenig. Diese Erscheinungen werden in den folgenden Tagen ausgeprägter. Tod am 28. Mai. Sektion: Analoger Befund wie bei den Versuchen 1, 2, 3, 9.

12. Versuch. Meerschweinchen von 440 g Gewicht. Am 24. Mai Einimpfung von $2^1/_2$ ccm derselben Kultur wie bei den vorstehenden Kaninchen. Nach einer Periode des Uebelseins von 3 Tagen erholte sich das Meerschweinchen nach und nach wieder.

II. Einimpfungen ins Peritoneum.

13. Versuch. Kaninchen von 1700 g Gewicht. Am 5. April Einimpfung von $1^1/_2$ ccm Tarozzi-Bouillonkultur. Tod nach 18 Stunden. Sektion: Peritoneum leicht opak geworden ohne fibrinöse Auflagerungen. Ganz spärliche Menge trüb seröser Flüssigkeit. Mäßige Hyperämie der Bauchorgane. Nichts Besonderes an den Brustorganen. Kulturen des Herzblutes steril. Kulturen der peritonealen Flüssigkeit positiv für den injizierten Keim. Die histologische Untersuchung der Organe weist keinerlei Läsionen nach bis auf eine ziemliche Hyperämie mit einigen Blutaustritten ohne Anwesenheit von Bacillen.

14. Versuch. Großes (gravides) Meerschweinchen von 700 g Gewicht. Am 5. April Einimpfung von 1 ccm der nämlichen Kultur wie bei dem vorausgehenden Versuch in die Peritonealhöhle. Schweres Uebelsein in den ersten Tagen. Am 12. April gebiert es. Die Jungen, welche schlecht genährt sind, gehen sämtlich nach 2—3 Tagen zugrunde. Das Meerschweinchen scheint sich etwas zu erholen, frißt jedoch wenig und hat nicht die Lebhaftigkeit derartiger Tiere. Am 30. April (d. h. nach 25 Tagen) geht es ein. Gewicht 400 g. Sektion: Peritoneum ohne erhebliche Alterationen. Milz etwas geschwollen. Lungen und Nieren kongest. Es war mir nicht möglich, die Kulturen mit dem Herzblut und der Peritonealserosität anzustellen. Nichts Besonderes bei der histologischen Untersuchung der Organe.

15. Versuch. Kaninchen von 1680 g Gewicht. Am 24. April Einspritzung von 3 ccm Tarozzi-Kultur ins Peritoneum. Am nächsten Morgen zeigt sich das Tier niedergeschlagen und frißt wenig. In den folgenden Tagen scheint es sich etwas zu erholen, dann neue Verschlimmerung. Am 2. Mai geht es ein; Gewicht nach dem Tode 1520 g. Sektion: Es besteht keine Peritonitis. Spärliche seröse Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Nichts auf seiten der Bauch- und Brustorgane. Die Kulturen der peritonealen Serosität und die des Herzblutes bleiben steril.

16. Versuch. Meerschweinchen von 490 g Gewicht. Am 24. April Einimpfung von 2 ccm derselben Kultur wie beim vorausgehenden Kaninchen in die Bauchhöhle. Keine besondere Erscheinung. Es wird nach 10 Tagen getötet. Nichts von Belang bei der Autopsie. Die Kulturen der peritonealen Serosität bleiben steril.

17. Versuch. Kaninchen von 1700 g Gewicht. Am 4. Juni Einspritzung von 3 ccm Vakuumkultur in Glykosebouillon. Vorübergehendes Uebelsein. Nach 2 Tagen hat sich das Kaninchen vollständig erholt.

18. Versuch. Meerschweinchen von 420 g Gewicht. Am 4. Juni Einimpfung von $2^1/_2$ ccm der vorstehenden Kultur. Keine wahrnehmbare Erscheinung.

III. Einimpfungen in das Unterhautzellgewebe.

19. Versuch. Kaninchen von 1710 g Gewicht. Einimpfung (am 6. April) von $1^1/_2$ ccm Tarozzi-Bouillonkultur in das abdominale Unterhautzellgewebe. Keine Reaktion.

20. Versuch. Meerschweinchen von 510 g Gewicht. Am 6. April Einimpfung von 1 ccm der obigen Kultur in das abdominale Unterhautzellgewebe. Keinerlei lokale noch allgemeine Erscheinung.

21. Versuch. Kaninchen von 1490 g Gewicht. Am 17. April Einspritzung von $2^1/_2$ ccm Tarozzi-Bouillonkultur. Das Tier zeigt keinerlei bemerkenswerte Symptome.

22. Versuch. Meerschweinchen von 490 g Gewicht. Am 17. April Einimpfung wie oben mit $1^1/_2$ ccm. Resultat negativ.

23. Versuch. Kaninchen von 1700 g Gewicht. Nach Rasieren der Haare und gewöhnlicher Desinfektion des Teiles wird eine Falte der Bauchdecken zwischen die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schenkel einer Klemme gefaßt und gequetscht, um so die Widerstandsfähigkeit des Gewebes, in das die Kultur eingeimpft werden soll, herabzusetzen. Nach 5 Stunden wird diese Einimpfung vorgenommen (3 ccm). Keine wahrnehmbare Erscheinung bis auf eine Hautnekrose, die auf die Quetschung zurückzuführen war und in wenigen Tagen verheilte.

24. Versuch. Meerschweinchen von 600 g Gewicht. Kontusion der Gewebe wie bei dem vorausgehenden Versuch. Einimpfung von 2 ccm der Kultur. Hautnekrose wie oben ohne Bildung einer Eiteransammlung.

25. Versuch. Kaninchen von 1640 g Gewicht. Einspritzung von $^1/_2$ ccm einer 1-proz. Milchsäurelösung in das abdominale Unterhautzellgewebe, in dieselbe Stelle werden 3 ccm der Kultur eingeimpft. Resultat negativ.

26. Versuch. Meerschweinchen von 540 g Gewicht. Injektion von Milchsäure wie bei dem vorstehenden Versuch und Einimpfung von $2^1/_2$ ccm wie oben. Resultat negativ.

Bevor ich zur Besprechung des Falles komme, halte ich es für angezeigt, etwas über die bei dem Studium des Keimes eingehaltene Technik zu sagen.

Die Isolierung wurde nach der Methode von Liborius[1]) in der Modifikation von Sanfelice[2]) vorgenommen. Obwohl alt, nimmt dieses Verfahren durch seine verhältnismäßige Einfachheit einen der ersten Plätze in der Isolierungstechnik der Anaëroben ein, da es allen, die sich seiner bedient haben, befriedigende Resultate gegeben hat. Mit einigen Modifikationen in dem Abheben der Kolonieen ist es in ausgedehntem Maßstabe und mit Erfolg von Veillon und seiner Schule erprobt worden. Das Verfahren von Liborius wird als Methode der höheren Schichten bezeichnet, eben weil die Isolierung in einer hohen Schicht festen Nährbodens (Agar, Gelatine) geschieht, derart, daß in den weniger oberflächlichen Schichten des Bodens der Luftsauersoff mittels längeren Kochens ausgeschaltet wird.

Liborius setzte bekanntlich dem Nährboden eine reduzierende Substanz, Traubenzucker im Verhältnis von 2 Proz., zu. Veillon verwendete eine geringere Menge Zucker, $1^1/_2$ Proz. Es wurde zuerst durch die Allgemeinheit der Forscher angenommen, daß der Zusatz von 2 Proz. die Entwickelung der Anaëroben beschleunige. Später aber wurde gesehen, und Smith[3]) hat diesen Punkt stark betont, daß diese Quantität in vielen Fällen die Kultur schädigt, so daß heute empfohlen wird, nicht über $^1/_2$ Proz. hinauszugehen. Ich habe mich an diesen Rat gehalten und gute Resultate erzielt: Der von mir isolierte Keim war in der Tat ein sehr anspruchsvoller Anaërobe, da ich ihn aërob in den gewöhnlichen Böden auch nach 3 Monaten nicht zur Entwickelung bringen konnte, und dennoch waren die Kulturen in Glykoseagar $^1/_2$ Proz. durchaus nicht kümmerlich.

Die Modifikation von Sanfelice besteht darin, daß die Röhrchen sofort nach der Einsaat in kaltes Wasser eingetaucht werden, um die Agarmasse rascher zum Erstarren zu bringen und das Wiederauflösen des atmosphärischen Sauersstoffes in derselben zu verhindern.

Daß dieses Isolierungsverfahren eine vollkommene Anaërobiose gewährleistet, läßt sich durch ein ganz einfaches Experiment dartun. Werden die Agarröhrchen mit einem sich durch Reduktion leicht entfärbenden Farbstoff, wie Natriumindigosulfat, versetzt, so beobachtet man bereits nach

1) Liborius, Beitrag zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. 1).

2) Sanfelice, Untersuchungen über anaërobe Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. 1893.)

3) Smith, zit. bei Marino, Méthode pour isoler les anaërobies. (Ann. Instit. Pasteur. 1907.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wenigen Stunden im Brutschrank, daß, während der oberflächlichste Teil ($1^1/_2$—2 cm) gefärbt bleibt, der Rest der Agarsäule vollkommen entfärbt ist. Dies besagt, daß hier eine vollständige Reduktion und somit eine vollständige Anaërobiose besteht.

In bezug auf das Abheben der isolierten Kolonieen ist zu bemerken, daß Liborius und Sanfelice die Agarsäule in einer sterilisierten Kapsel sammelten, indem sie entweder das Reagensglas zerbrachen, oder die Agarsäule durch Erwärmen des Bodens des Reagensglases austreiben ließen. Dann schnitten sie sie in Scheiben und schritten zur Verimpfung der Kolonieen. Veillon dagegen hebt die Kolonieen, nach und nach wie sie sich entwickeln, direkt aus dem Röhrchen mit einer langspitzigen Pasteur-Pipette ab und stellt die Röhre nach jedem Abheben wieder in den Brutschrank.

Das Vorgehen von Veillon hat gewiß große Vorzüge. Angesichts der Fragilität einiger Anaëroben und der großen Langsamkeit, mit der andere sich entwickeln, kann es, wenn man mehrere Tage bis zur Verimpfung der isolierten Kolonieen (d. h. bis die Species entwickelt sind) wartet, vorkommen, daß einige Species nicht isoliert werden können. Diesen Uebelstand vermeidet das Verfahren von Veillon. Andererseits aber ist es klar, daß bei Aspiration einer Kolonie mit der Pipette in einer gewissen Tiefe noch nicht manifeste zu anderen Bakterienspecies gehörende Kolonieen berührt werden können, was, da dadurch neue Isolierungen erforderlich werden, einen nicht gleichgültigen Zeitverlust und einen Nachteil für die Untersuchung des pathogenen Vermögens der Keime bildet. Nicht geringere Uebelstände weist meines Erachtens die Erwärmung des Bodens des Reagensglases und der Agarsäule zur Erleichterung des Austreibens derselben aus dem Reagensglas auf. Ist die Erwärmung gering, so versagt sie in ihrem Zweck, wird sie etwas weiter getrieben, dann können die peripherstem Kolonieen abgetötet werden. Andererseits wird die noch warme Agarsäule beim Rollen in die Petri-Schale deformiert und ihre Zerlegung in Scheiben und das Abheben der Kolonieen kann sehr schwierig werden. Nach der geringen Erfahrung, die ich habe gewinnen können, glaube ich, daß es am besten ist, das Reagensglas zu zerschlagen. Eben das Abheben der Kolonieen ist der einzige schwierige Punkt in dem Verfahren von Liborius.

Nicht umhin kann ich schließlich, auf eine andere Isolierungsmethode, deren wir uns im Laufe unserer Untersuchung bedienten (s. p. 206), nämlich die Methode Marino, aufmerksam zu machen. Marino[1]), der mit seinem Verfahren vorzügliche Resultate bei der Untersuchung der anaëroben Flora des Darmes erhalten hat, verwendet Agar mit 0,3 bis 0,5 Proz. Taubenzucker unter Zusatz von Pferde- oder Kaninchenserum, macht seine Verdünnung in einer Reihe von Reagensgläsern wie Liborius, und gießt, bevor der Agar fest wird, den Inhalt in Petri-Schalen, bei denen der Deckel als Boden und der umgekehrte Boden als Deckel dient. Der Nährboden wird so zwischen 2 Glasflächen ohne Luftzwischenlagerung komprimiert. Die Schalen werden dann in andere weitere und höhere Petri-Schalen gesetzt. Das Abheben der Kolonieen geschieht bequem durch Wegnahme der beiden Glasflächen. Das Verfahren Marino fußt, wenn man von dem Serumzusatz zu dem Nährboden absieht, auf derselben Vorstellung der alten Methode von Koch, der auf das Substrat eine Glimmerplatte legte. Auch Sanfelice hatte

1) Marino, Méthode pour isoler les anaërobies. (Ann. Instit. Pasteur. 1907.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bereits 1890 ein analoges Verfahren wie Marino verwendet. Sicher ist jedoch, daß die Methode sehr gute Resultate geben kann, wie sie neuestens Lotti[1]) gegeben hat.

Das ideale Verfahren für die Isolierung der Anaëroben wäre das Plattenverfahren im Vakuum oder in einem Raum, in dem die Luft durch ein inertes Gas substituiert ist; diese Methode ist aber auch in der Hand von sehr tüchtigen Experimentatoren sehr unkonstant in ihren Resultaten.

In bezug auf die nach der Isolierung des Keimes vorgenommenen Kulturen möchte ich die großen Vorzüge hervorheben, die das Verfahren von Tarozzi[2]) durch seine Bequemlichkeit und auch durch die üppigere und frühere Entwickelung im Vergleich mit den Vakuumkulturen in Glykosebouillon bietet. Während in den Tarozzi-Kulturen die Entwickelung in 24—26 Stunden nie ausblieb, mußte man bei den anderen 6, 7, 9 und auch 14 Tage warten. Die Untersuchungen von Tarozzi und fast gleichzeitig diejenigen von Grixoni[3]) und von Wrzosek[4]) haben nicht nur einen radikalen Wechsel in unsere Anschauungen über die Anaërobiose gebracht, sondern haben auch das Verdienst, in die Technik der Züchtung der Anaëroben eine leichte und sichere Methode eingeführt zu haben.

Identifizierung des Keimes.

Bevor ich mich mit der Identifizierung des Keimes befasse, kann ich nicht umhin, sein Verhalten gegen Gram in Betracht zu ziehen.

Wie erwähnt, zeigte die mikroskopische Untersuchung des Eiters mit der Gram-Methode (mit Kontrastfärbung), daß sämtliche Keime grambeständig waren. In den Kulturen dagegen widerstanden die Keime wenig, wenn man nicht darauf achtete, daß die Passage in absolutem Alkohol eine rasche war: Zuweilen blieben auch hierbei nur wenige Bacillen vollkommen blau gefärbt. Diese Erscheinung verwirrte mich zuerst, und einen Augenblick lang hatte ich den Verdacht, daß der gezüchtete Keim der mikroskopischen Untersuchung entgangen wäre und ich durch die Kulturen nur diesen erhalten hätte, der in dem Eiter beobachtete grambeständige aber nicht isoliert worden wäre. Dieser Verdacht war zunächst um so hartnäckiger, als, wie wir gesehen haben, die putriden Pleuritiden meistens Polymikrobeninfektionen sind.

Der Verdacht war jedoch aus mehreren Gründen haltlos. Zunächst mußte, zugegeben auch, daß der durch die Kulturen erhaltene Keim bei der mikroskopischen Untersuchung des Eiters übersehen worden war, notwendigerweise angenommen werden, daß er in ganz geringen Proportionen enthalten war. Zahlreich waren dagegen die in der letzten Isolierungsröhre aufgefundenen Kolonieen des Keimes, die ich isolieren konnte: Der Keim war also in dem Eiter ausgiebig vertreten. Aus dem umgekehrten Grunde war es, da der gramresistente Keim in dem Eiter äußerst abundant war, nicht gut zu verstehen, daß es uns nicht gelungen sein sollte, auch nur eine Kolonie zu isolieren. Andererseits besaß der iso-

1) Lotti, Contributo alla conoscenza dei germi anaerobi dell' intestino incondizioni patologiche. (Annali d'Ig. Sperimen. 1909.)

2) Tarozzi, Sulla possibilità di coltivare facilmente all'aria in cultura pura i germi anaerobici. (Atti R. Acc. Fisiocr. di Siena. 1905; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. p. 619.) — Osservazioni sulla natura dei fenomeni etc. (Atti R. Acc. Fisiocr. die Siena. Vol. 13.)

3) Grixoni, Sulla biologia degli anaerobi. (Giornale med. d. R. Esercito. 1905.)

4) Wrzosek, Beobachtungen über die Bedingungen des Wachstums der obligaten Anaëroben in aërober Weise. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lierte Keim die gleiche Form, Größe, Gruppierung des in dem Eiter angetroffenen grambeständigen Keimes und war wie dieser asporogen. Die Kulturen strömten überdies wie der Eiter Fäulnisgestank aus und enthielten wie der Eiter ziemliche Mengen Gas.

Aus diesen Gründen gewann ich die Ueberzeugung, daß auf das verschiedene Verhalten gegen Gram keinerlei Gewicht zu legen war, um die Identität des isolierten Bacillus mit dem im Eiter beobachteten zu verwerfen.

Die Nachschlagungen in der Literatur, die ich späterhin machen konnte, beruhigten mich noch mehr über diesen Punkt. In einer ganz kürzlichen Arbeit über die anaëroben Keime des Darmes in pathologischen Zuständen macht Lotti[1]) besonders auf den Gegenstand aufmerksam. „Ein absolutes Kriterium bei der Diagnose der anaëroben Keime, schreibt er, kann nicht auf die Farbreaktionen gegründet werden. Es handelt sich zum großen Teil um farbgierige Bakterien, von denen einige unter allen Umständen gegen die Entfärbung mit der Gram-Methode beständig sind, andere konstant, nicht resistent; es gibt aber auch Bakterien, welche sich in unvollkommener und variabler Weise färben und entfärben, sei es im Zusammenhang mit ihrem Alter, dem Nährboden und auch mit anderen nicht gut definierten Umständen. Im allgemeinen läßt sich sagen, daß die entarteten oder abgestorbenen Formen die Fähigkeit zu resistieren verlieren, dies ist aber nicht immer der Fall, da zuweilen bei sukzessiven Generationen ein anderes Verhalten beobachtet worden ist, wodurch einige gramresistente Keime diese ihre Eigenschaften verlieren, um sie später wieder zu erlangen (Rist).“ Lotti beschreibt dann einige bei seinen Untersuchungen angetroffene Anaërobenformen und sagt hinsichtlich des Perfringens, daß er Gram widersteht, aber neben den vielen resistenten Bacillen viele entfärbte Formen beobachtet werden: Es handelt sich meistens um abgestorbene Keime, zuweilen aber sind vielleicht andere Umstände an diesem speziellen Verhalten beteiligt, da in einem und demselben Kettchen entfärbte Keime zusammen mit anderen beobachtet werden können, welche die Farbe stark behalten haben. Weiterhin bemerkt er hinsichtlich des Anaërobius minutus von Tissier, daß bei den von ihm isolierten Proben dieser Keim gegen Gram etwas unkonstant ist. Bei den ersten Verimpfungen hatte er sich stets resistent gezeigt, später aber verliert er diese seine Eigenschaft und erwirbt sie auch nicht wieder trotz aller Aenderungen der Nährböden. Ghon, Mucha und Müller[2]) isolierten in einem Fall von eitriger Meningitis otitischen Ursprungs (2. Fall) einen Bacillus, der gegen Gram manchmal positiv, manchmal negativ war: Die gut entwickelten Formen der frischen Kulturen färbten sich stets. Rodella[3]) isolierte in dem Eiter eines gashaltigen Abscesses der Pectoralgegend (außer 2 Aëroben und 1 Anaëroben) einen Anaëroben, der, wenn er allzusehr mit Gram entfärbt wurde, blaß oder nur hier und da gefärbt erschien. Aus einem zu Mittelohrentzündung konsekutiven Pyopneumothorax isoliert Rist (s. Abhandlung von Guillemot, Hallé und Rist, l. c. p. 634) außer zahlreichen (anaëroben) Keimen einen anaëroben Bacillus, den er nicht genau untersuchen konnte und der gramresistent

1) Lotti, l. c.

2) Ghon, Mucha u. Müller, Zur Aetiologie der akuten Meningitis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41.)

3) Rodella, Bakteriologischer Befund im Eiter eines gashaltigen Abscesses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903. p. 135.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

war; viele Elemente verloren jedoch in den 4—5 Tage alten Kulturen das Gram.

Es ist also nicht auffallend, wenn der von mir isolierte, in dem Eiter grambeständige Keim diese Eigenschaften in den Kulturen nicht vollkommen bewahrt hat.

Die Charaktere des Keimes können, wie folgt, zusammengefaßt werden: Kleiner, plumper Bacillus, der sich zuweilen als Coccobacillus zeigt, 1—1,50 μ lang, 0,80—1,20 μ breit, mit abgerundeten Enden, häufig diplo- oder streptobacillenartig gruppiert. Unbeweglich. Ohne Cilien. Asporogen. Ohne Kapsel. Gramresistent in den Präparaten des Eiters, wenig resistent in den Präparaten der Kulturen.

In Glykoseagar-Schüttelkulturen linsenförmige oder runde, weiß-opake Kolonieen, welche bald maulbeerförmig, keilförmig oder nagelförmig werden; ganz spärliche Gasentwickelung.

In Glykoseagarplatten nach Marino ganz kleine punktförmige Kolonieen, welche sich unter dem Mikroskop kernlos, körnig, mit chagrinierten Rändern zeigen.

In Glykose- und Glyzerinagar-Stichkulturen durch Einstich bildet er einen transparenten velamentösen Keil, der aus winzig kleinen, angehäuften Kolonieen besteht; ziemliche Gasentwickelung.

In der Milch gibt er in 5 Tagen Gerinnsel, welches sich nicht wieder auflöst: Saure Reaktion des Mediums.

In Bouillon Tarozzi wächst er üppig nach 24—36 Stunden.

In Glykosebouillon in Röhrchen nach Gruber weniger üppige und spätere Entwickelung (6—9—12—14 Tage) als in Bouillon Tarozzi, mit Trübung ohne Flocken und Häutchen.

In einfacher Gelatine, Glykosegelatine, auf einfacher Kartoffel, Glyzerinkartoffel wächst er nicht.

Er gibt kein Indol.

Die Kulturen, besonders in flüssigen Medien, strömen einen Fäulnisgestank aus, der identisch ist mit demjenigen des Eiters, aus dem der Keim isoliert wurde.

Entwickelungstemperatur: Optimum 37°, doch wächst er, obwohl weniger üppig, auch bei Zimmertemperatur.

Vitalität nicht lang: Ohne verimpft zu werden, lebt er 12—14 Tage.

Pathogen für das Kaninchen und Meerschweinchen bei Einimpfung in die Pleura und in das Peritoneum, unschädlich subkutan. Der Tod tritt durch Vergiftung ein, ohne lokale Erscheinung. Der Keim geht nicht in das Blut über.

Die so eingehend wie möglich von mir angestellten literarischen Nachforschungen lassen mich annehmen, daß der isolierte Keim mit keinem der bis jetzt bekannten identifiziert werden kann, obwohl er Charaktere mit folgenden gemein hat: B. ramosus von Veillon und Zuber, B. fragilis von Veillon und Zuber, Coccobacillus von Veillon und Morax, Bacillen C. F. von Gaudiani, einem von Ghon, Mucha und Müller beschriebenen Bacillus.

Der B. ramosus, einer der bestbekannten pathogenen Anaëroben, welcher in vielen eitrigen, fötiden und gangränösen Läsionen angetroffen worden ist (Appendicitis, Otitis und Mastoiditis, Lungengangrän, jauchige Pleuritis, Zahnabscessen etc.), hat mit unserem Keim gemeinsam die Dimensionen (obwohl dieselben beim Ramosus in sehr weiten Grenzen schwanken), die Unbeweglichkeit, die Abwesenheit von Sporen und Kapsel, die Form der Kolonieen in Glykoseagarröhrchen, das Gerinnen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Milch (bei Ramosus in neuester Zeit durch Lotti studiert), das Nichtwachsen in Gelatine, die Abwesenheit von Indol in den Kulturen. Unser Keim entfernt sich jedoch dadurch von ihm, daß er keine Filamente bildet, nicht die charakteristischen Verästelungen zeigt, denen der B. ramosus seinen Namen verdankt, noch die Gruppierung zu denjenigen des Diphtheriebacillus ähnlichen Büschen. Der Ramosus ist konstant gramresistent, wächst nicht bei Zimmertemperatur (nur Jungano[1]) gelang es einmal, ihn zu kultivieren), besitzt eine bedeutend längere Vitalität als unser Keim, da die Kulturen noch nach einem Monat leben. Der Ramosus gibt geringste oder gar keine Gasproduktion (durch Lotti isolierte Stämme), unser Keim erzeugt in einigen Böden (Glykoseagar-Stichkultur) solches in ziemlicher Quantität. Der Ramosus erzeugt, dem Meerschweinchen subkutan eingeimpft, Abscesse, welche sich zur Heilung wenden, beim Kaninchen auf demselben Weg innerhalb 2—10 Tagen tödliche Abscesse. Um so weniger kann unser Bacillus mit dem Bacillus μ von Lotti identifiziert werden, der aus den Faeces eines an Diarrhöe leidenden Individuums isoliert wurde. Der genannte Bacillus steht dem Ramosus sehr nahe, von dem er sich dadurch unterscheidet, daß er die Laktose nicht modifiziert und Sporen erzeugt (die Sporen wurden nicht durch die spezifische Färbung nachgewiesen, sondern angenommen, weil der Bacillus einer 3-minutigen Erhitzung auf 70° widerstand).

Der zuerst von Veillon und Zuber[2]) beschriebene und im Eiter von Appendicitiden, bei den periurethralen Infektionen, den jauchigen Pleuritiden, der Lungengangrän etc. angetroffene B. fragilis kommt unserem Keim nahe durch seine Dimensionen, die Abwesenheit von Sporen, die Unbeweglichkeit, entfernt sich aber dadurch von ihm, daß er konstant gramnegativ, weniger vital als der unsere ist (die Kulturen des Fragilis sterben nach 7—8 Tagen ab, woher seine Benennung), in Gelatine wächst, äußerst kleine Kolonieen zeigt, im Unterhautzellgewebe pathogen für das Meerschweinchen ist, bei dem er nach kürzerer oder längerer Zeit tödliche Abscesse hervorruft, und ebenso für Kaninchen, bei dem er ausgedehnte Phlegmone mit Ablösungen der Haut und Tod in 6—7 Tagen erzeugt.

Der von Veillon und Morax[3]) bei einer gangränösen Peridacryocystitis, von Monier[4]) bei Zahncaries, von Guillemot Hallé, Rist[5]) bei einer putriden Pleuritis (mit anderen Anaëroben) angetroffene Coccobacillus ist von den erwähnten Autoren nicht so ausführlich beschrieben worden, daß sich ein Vergleich mit unserem Keim anstellen ließe. Immerhin bestehen zwischen den beiden wichtige Differentialcharaktere, durch die es nicht möglich ist, sie miteinander zu identifizieren. Der Coccobacillus von Veillon und Morax ist, wie der unsrige, ein ganz kurzes Stäbchen. Doch hat der erstere ovale Form und zeigt in den Kulturen in der Mitte eine Anschwellung, welche einer Spore gleicht. Der Coccobacillus erzeugt Abscesse bei den Meerschweinchen, der unsrige keine.

---

1) Jungano, Introduzione allo studio delle infezioni dell' app. urinario con speciale riguardo alla pres. degli anaerobi. Napoli (Typogr. F. Sangiovanni) 1907.

2) Veillon et Zuber, Sur quelques microb. strictem. anaér. et leur rôle dans la pathologie humaine. (Arch. de méd. expér. 1898.)

3) Veillon et Morax, Péridacryocystite gangr. (Ann. d'Ocul. 1900.)

4) Monier, Contribution à l'étude des infect. dentaires. [Thèse.] Paris 1904.

5) l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Bacillus C von Gaudiani[1]) (neben dem Streptococcus und einem Bacillus vom Typus Coli), aus einer dem Oedema malignum ähnlichen Läsion der Unterextremität, die auf Exkoriation und Kontusion gefolgt war, isoliert, nähert sich dem unsrigen durch die Dimensionen, die Gruppierungen der Kettchen, die Abwesenheit von Sporen, Kapsel, Bewegung, das Gerinnen der Milch, die Eigenschaft, auch bei 22° zu wachsen. Er entfernt sich von ihm dagegen dadurch, daß er kein Gas entwickelt, die Kulturen nicht fötid sind, durch das Aussehen der Kolonieen in Agarschüttelkulturen und die konstante Grambeständigkeit. In kleiner Dosis und mit Milchsäure subkutan eingeimpft, erzeugt er bei den Meerschweinchen ausgedehnte entzündliche Infiltration und den Tod in 6—8 Tagen; bei Kaninchen serös-blutiges Exsudat mit Bildung von Schorfen oder eines kleinen Abscesses ohne tödlichen Ausgang.

Der Bacillus F des nämlichen Autors (zusammen mit dem Staphylococcus albus), bei einer subperiostalen phlegmonösen Infiltration des Unterkiefers dentaren Ursprungs angetroffen, nähert sich dem unsrigen durch die Dimensionen, die Abwesenheit von Sporen, Kapsel, Bewegung; dadurch, daß er körnige Kolonieen in Glykoseagar gibt, subkutan dem Kaninchen eingeimpft, keinerlei Reaktion hervorruft. Dagegen entfernt er sich von ihm dadurch, daß er auch in den Kulturen gut grambeständig ist, kein Gas gibt, die Kulturen nicht fötid sind, daß er die Milch nicht gerinnen macht und subkutan den Meerschweinchen eingeimpft, eine schmerzhafte Infiltration hervorruft, welche in wenigen Tagen heilt.

Der Bacillus von Ghon-Mucha-Müller (l. c.), in Reinkultur aus dem Eiter einer akuten Meningitis der hinteren Schädelgrube nach Otitis media erhalten und nahezu mit den nämlichen Charakteren aus einer fibrinös eitrigen Leptomeningitis der Konvexität, konsekutiv zu Cholesteatom und Otitis media, kommt dem unsrigen nahe durch seine Kleinheit und noch mehr dadurch, daß sowohl in dem Exsudat wie in den Kulturen einige Formen kurz, kokkenartig waren. Außerdem war er wie der unsrige asporogen, unbeweglich, nicht mit einer Kapsel versehen. Er entfernt sich von ihm hingegen dadurch, daß Eiter und Kulturen nicht fötid waren, daß er keine Gasentwickelung gab, gramnegativ war; sowie durch die äußerst langsame Koagulation der Milch und sein beschränktes pathogenes Vermögen auch bei der Injektion in das Peritoneum.

Wenn mir bei meinen literarischen Nachforschungen nichts entgangen ist, ergibt sich aus diesem raschen Ueberblick, daß unser Keim mit keinem der bisher beschriebenen identifiziert werden kann.

Immerhin halte ich mich für verpflichtet, einen Vorbehalt zu machen. Abgesehen von der Möglichkeit, daß mir trotz der Gewissenhaftigkeit, mit der ich die Literatur zusammenstellte, die eine oder andere Arbeit entgangen sein könnte, sind unsere Kenntnisse über die anaëroben Keime noch so spärlich und unvollständig, daß ihre Identifizierung häufig unerwartete Schwierigkeiten aufweist.

Der Wirt, aus dem ein Keim erhalten worden ist, die Vergesellschaftung mit anderen Keimen, die Zusammensetzung und Reaktion des Nährbodens, das Alter der Kultur und vielleicht sonstige uns unbekannte Faktoren können in den Bakterien im allgemeinen und in den Anaëroben

1) Gaudiani, I germi anaerobi nelle suppurazioni. (Annali d'Ig. sperim. 1907.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

im besonderen derartige morphologische, tinktorielle, kulturelle und biologische Variationen bewirken, daß sie an differente Species glauben lassen, während es sich vielmehr um einen und denselben Keim handelt, welcher unter den angedeuteten Umständen einige seiner Charaktere ändert. Die Summe der unter den verschiedensten Umständen studierten Charaktere ist es, welche eine glaubwürdige Diagnose ermöglichen kann.

Es ist nunmehr z. B. festgestellt, daß der Bacillus von Achalme, der B. aërogenes capsulatus von Welch-Nuttall, der B. phlegmonis emphysematosae von Fränkel, der B. perfringens von Veillon und Zuber und nach einigen auch der B. enteritidis sporogenes von Klein nichts als verschiedene Namen sind oder höchstens Varietäten eines und desselben Keimes, während ein jeder Autor glaubte, es mit einem neuen Mikroben zu tun zu haben. Wenn dies nun bei einem in der Natur sehr verbreiteten Keim vorgekommen ist, der Gegenstand sorgfältiger Studien gewesen ist, so ist der Vorbehalt, den ich mache, mehr als berechtigt. Weitere Untersuchungen werden zeigen, ob mein Bacillus als ein Bakterium für sich oder als eine Varietät der oben erwähnten, mit denen er gewisse Eigenschaften gemein hat, betrachtet werden muß.

Ein jeder sieht, wie große Wichtigkeit derartige Untersuchungen unter dem Gesichtspunkt der reinen Bakteriologie außer nach dem pathologischen Gesichtspunkt hin besitzen.

Wir werden nun die pathogene Wirkung des Keimes beim Kranken und bei den Versuchstieren etwas näher betrachten.

In das Unterhautzellgewebe injiziert (1—3 ccm Bouillonkultur), erzeugt der Keim keinerlei lokale Wirkung noch allgemeine Erscheinungen, auch wenn die Einimpfnng nach Schwächung der Widerstandskraft der Gewebe durch Kontusion derselben (Versuche 23, 24) oder zusammen mit einer minimalen Quantität Milchsäure (Versuch 25, 26) geschieht.

Ins Peritoneum eingeimpft, zeigt sich der Keim virulent, obwohl nicht konstant. Er erzeugt keine Entzündung der Serosa, noch wird der Keim im Herzblut gefunden: Aus der peritonealen Serosität ist es möglich, den eingeimpften Keim wiederzuerhalten. Wahrscheinlich ist der Tod der Tiere auf durch ihn ausgearbeitete toxische Produkte zurückzuführen. Das Kaninchen ist empfänglicher als das Meerschweinchen. Es genügt $1^1/_2$ ccm Kultur, um ein Kaninchen von 1200 g Gewicht (Versuch 13) zu töten, während ein Meerschweinchen von 700 g Gewicht mit 1 ccm der nämlichen Kultur erst nach mehreren Tagen zugrunde geht (Versuch 14).

Die Impfungen in das Peritoneum beweisen, daß der Keim progressiv seine Virulenz verliert. Während so bei der ersten Impfung (5. April) mit $1^1/_2$ ccm der Tod in 18 Stunden erhalten wurde, ging das Kaninchen des 15. Versuches von nahezu gleichem Gewicht, am 24. April mit 3 ccm geimpft, erst nach 8 Tagen zugrunde.

In die Pleura eingeimpft, zeigt sich der Keim virulenter als im Peritoneum. Auch hier keinerlei lokale Wirkung bis auf einen zuweilen höchst ausgeprägten hyperämischen Zustand mit Spuren von serös-blutiger Flüssigkeit in der Pleurahöhle. Der Keim wird nicht im Kreislauf gefunden, ebensowenig kann er in den mikroskopischen Schnitten der untersuchten Organe außer in den peripheren Schichten der Lunge (im subpleuralen Bindegewebe) nachgewiesen werden.

Wahrscheinlich muß der Tod der in die Pleura wie der in das Peritoneum geimpften Tiere durch toxische, durch den Bacillus ausge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

arbeitete Produkte verursacht worden sein, gingen doch dieselben unter dem Bilde der allgemeinen Intoxikation zugrunde.

Die progressive Abschwächung der Virulenz des Keimes konnte auch in dieser Versuchsreihe nachgewiesen werden. So ging ein Kaninchen von 1500 g Gewicht (Versuch 1, 5. April, d. h. 9 Tage nach der Operation) mit 1 ccm Kultur zugrunde, während das Kaninchen des 5. Versuches, am 24. April mit $2^1/_2$ ccm geimpft, nach einem Uebelbefinden von einigen Tagen heilt. Am 8. Mai waren 3 ccm Kultur nötig, um ein Kaninchen von 1600 g Gewicht zu töten. Das Versuchsprotokoll zeigt, daß unter Berücksichtigung des Gewichtes der Tiere die Kaninchen empfänglicher sind, als die Meerschweinchen.

Nach diesen Versuchen möchte es scheinen, als ob der isolierte Bacillus nicht der Erreger der von dem Kranken dargebotenen eitrigen Pleuritis wäre, da es bei den Versuchstieren nicht gelang, eine Pleuraeiterung, eine Peritonitis oder einen Absceß des Unterhautzellgewebes zu erzeugen.

Dieser Schluß wäre aber falsch. Zweifellos ist die Möglichkeit, mit einem gegebenen Keim bei den Tieren eine beim Menschen beobachtete Läsion zu reproduzieren, das Ideal der Beweise, welche für die Spezifität jenes Keimes angeführt werden können. Wir wissen aber, daß dies nicht immer möglich ist und daß für sicher spezifisch für gewisse Krankheiten gehaltene Keime vorkommen, welche bei den Tieren keinerlei Läsion oder eine ganz differente hervorrufen. Die Beispiele dieser Art sind, wie ein jeder weiß, bei den aëroben Keimen nicht gering. Was die Anaëroben anbelangt, besonders diejenigen, welche man bei den Eiterungen anzutreffen gewohnt ist, die meistens Polymikrobeninfektionen sind, so tritt hier die Erscheinung mit größerer Häufigkeit auf, auch weil die wiederholten Aussaaten, die gemacht werden müssen, bevor man zur Isolierung der verschiedenen Species gelangt, Zeit erfordern, während deren das pathogene Vermögen sich abschwächt oder ganz verloren geht.

Dieses Argument kann in unserem Fall nicht angezogen werden, teils weil die ersten Versuche verhältnismäßig bald gemacht wurden (5., 6. April, d. h. nur 9 Tage nach der Operation), teils weil der Keim sich virulent zeigte und den Tod der Tiere durch Intoxikation herbeiführt.

In unserem Fall lassen sich zwei Vermutungen aufstellen, nämlich 1) entweder haben wir die Pleuraläsion nicht reproduziert, weil uns bei der Isolierung einige andere anaërobe Keime entgangen sind, deren Symbiose mit dem isolierten zur Erzeugung suppurativer Erscheinungen unerläßlich war; oder aber 2) gehört der Keim zu denjenigen, welche beim Menschen eine gegebene Läsion und bei den Tieren eine andersartige hervorrufen.

In dieser Hinsicht dürfte es von Nutzen sein, an die Resultate der endopleuralen Einimpfungen zu erinnern, die Guillemot, Hallé, Rist mit Eiter und dem isolierten Keime der von ihnen untersuchten Fälle putrider Pleuritis machten. Wie wir eingangs gesehen haben, waren die aus jedem Fall isolierten Anaëroben mehrere, nur einmal (Beobachtung 11, Hallé et Guillemot) war die Läsion durch einen Keim allein bedingt. Nun gelang es den Autoren, durch Injektion des Eiters in die Pleurahöhle konstant die putride Pleuritis zu reproduzieren. Durch Injektion der Kulturen der isolierten Keime reproduzierten sie die Läsion unter der Bedingung, daß sie mehrere Bakterienspecies vergesellschafteten; mit nur einer Species erzielten sie stets ein negatives Resultat. Leider konnten die Autoren wegen seiner kurzen Vitalität

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keine endopleuralen Einimpfungen mit dem in der 9. Beobachtung, bei der die Läsion monomikrobisch war, isolierten Bacillus (glutinosus) machen. Das Resultat einer solchen Einimpfung wäre für die Deutung meines Falles, in dem die Läsion ebenfalls nur durch einen Mikroorganismus gegeben war, von Interesse gewesen. Immerhin hat für meinen Fall das negative Resultat Bedeutung, das die vorgenannten Autoren bei Einimpfung nur einer der in den anderen Beobachtungen isolierten Bakterienspecies erzielten.

Die erste Vermutung, die ich oben aufgestellt habe, daß ich nämlich einige andere Anaëroben nicht isoliert haben möchte, muß ernstlich erörtert werden.

Wer sich mit anaëroben Keimen beschäftigt hat, weiß, auf wie viel Schwierigkeiten man im Fall der Vergesellschaftung mehrerer Arten bei der Isolierung aller stößt. Guillemot, Hallé, Rist sagen, es sei ihnen in einigen Fällen nicht gelungen, sämtliche Anaëroben, die man in dem Eiter sah, zu isolieren. Auch Lorrain konnte in seinem Falle einen anaëroben Coccus nicht isolieren, der mit dem B. ramosus und dem Pyocyaneus koexistierte.

Trotzdem nehme ich mit aller Wahrscheinlichkeit an, daß kein Keim mir bei der Isolierung entgangen ist. Die mikroskopische Untersuchung wurde sorgfältig gemacht: Wie wir gesehen haben, fanden wir nur eine Species, da der Zweifel, die coccobacillären Formen möchten eine andere Species darstellen, durch die wiederholten Isolierungen ausgeschaltet wurde. Der isolierte Keim hatte die morphologischen Charaktere der im Eiter beobachteten Keime. In den Kulturen erzeugte er den gleichen Gestank, den der Eiter ausströmte. Wie der Eiter mit einer mäßigen Menge Gas untermischt war, entwickelte auch der Keim in den Kulturen eine mäßige Menge Gas. Von nicht geringer Bedeutung ist dann die Tatsache, daß in den direkt aus dem Eiter in flüssigem Medium (Bouillon Tarozzi) angelegten Kulturen keine anderen Keime außer den in den Reagenzgläsern nach Liborius isolierten existierten. Aus all diesen Gründen bin ich zu der Ansicht gekommen, daß nur der von mir isolierte Keim bei unserem Patienten die eiterige Pleuritis verursacht hat und daß das negative Resultat der experimentellen Einimpfungen dadurch zu erklären ist, daß der Keim beim Kaninchen und Meerschweinchen (pleural oder peritoneal) eine Intoxikation hervorruft, der die beiden Tiere bald unterliegen, bald nicht, aber keine suppurativen Erscheinungen.

Uebrigens haben nicht wenige aus eiterigen Läsionen isolierte und von den betreffenden Autoren für die Erreger der Läsionen selbst gehaltenen Anaëroben bei den Tieren weder Eiterung noch Intoxikation hervorgerufen, die ich bei meinen Versuchen zu beobachten Gelegenheit hatte. So zeigten sich z. B. die durch Ghon, Mucha und Müller bei akuter Meningitis isolierten Keime in den Tieren fast ganz unschädlich. Neuerdings fand Heyde[1]) in einem Fall von Hirnabsceß einen obligaten Anaëroben, der, wenngleich für das Tier nicht pathogen, von ihm für den einzigen Erreger des Abscesses gehalten wurde.

Was den Mechanismus der durch den Keim bei den Tieren entfalteten pathogenen Wirkung anbelangt, so ist hervorzuheben, daß derselbe einigen anaëroben und aëroben Keimen gemein ist. Als Beispiele

1) Heyde, Zur Kenntnis der Gasgangrän und über einen Fall von Hirnabsceß, ausschließlich bedingt durch anaërobe Bakterien. (Beitr. z. klin. Chir. Bd. 61.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mögen dienen der Tetanusbacillus und der Diphtheriebacillus, welche den Prototyp der Bakterien darstellen, die, ohne in den Kreislauf einzudringen, eine hervorragend toxische Wirkung durch die in loco ausgearbeiteten Produkte entfalten.

Hervorgehoben zu werden verdient auch die Tatsache der absoluten Unschädlichkeit des Keimes bei subkutaner Injektion. Man kann annehmen, daß im Unterhautzellgewebe der Keim ungeeignete Bedingungen zur Ausarbeitung seiner toxischen Produkte findet, oder aber daß diese, kaum gebildet, derartige chemische Veränderungen erleiden, daß ihre schädliche Wirkung neutralisiert wird. Dies sind jedoch, wie jedermann sieht, Hypothesen, die auf keinerlei Tatsachen gegründet sind.

Es bleibt nun noch die Pleuraläsion in ihren klinischen Eigentümlichkeiten im Zusammenhang mit dem beschriebenen bakteriologischen Befund zu betrachten.

Die von uns beobachtete Pleuritis weicht von dem klinischen Typus der durch Pneumokokken, Streptokokken, Staphylokokken und andere aërobe Keime hervorgerufenen Pleuritiden ab. Wie wir wiederholt bemerkt haben, strömte der bei der Eröffnung der Pleura extrahierte Eiter einen unerträglichen Fäulnisgestank aus und war mit Gas vermischt, welchen Befund man bei den gewöhnlichen eiterigen Pleuritiden nicht bekommt. Unser Fall gehört zur Kategorie der jauchigen Pleuritiden, d. h. der Pleuritiden mit stinkendem Eiter, welche klinisch in den letzten 30 Jahren namentlich von französischen Autoren recht eingehend studiert worden sind.

Die Pleuritiden mit stinkendem Eiter werden von Dieulafoy[1]) „pleurésies ozéneuses“ genannt und in fötide, putride und gangränöse unterschieden.

Die fötiden sind diejenigen, bei denen der Eiter Gestank gibt, ohne daß Fäulnis oder Gangrän bestände.

Die putriden sind ausgezeichnet durch die Erscheinung der Fäulnis, d. h. man hat Gasentwickelung in der Pleurahöhle und demnach Symptome von Pneumothorax; die Einimpfung des Eiters in Tiere erzeugt eine Gasphlegmone, in den Kulturen beobachtet man Gasentwickelung.

Die gangränösen sind Pleuritiden mit fötidem Eiter, in dem sich in Zerfall begriffene Gewebslappen finden.

Diese Einteilung ist etwas gekünstelt, da eine fötide Pleuritis putrid werden kann und eine putride Pleuritis gangränös. Dieulafoy selbst bemerkt, daß in Wirklichkeit die putride Pleuritis und die gangränöse einander sehr nahe stehen.

Die nämlichen aëroben und anaëroben Krankheitserreger, welche eine putride Pleuritis hervorgerufen haben, können gangränöse Läsionen bedingen sowohl beim Menschen wie bei den Versuchstieren. Er zitiert in der Tat die Beobachtung von Widal, bei der die Pleuritis, wie bei der Sektion konstatiert werden konnte, keine gangränöse war, und doch die Einimpfung der Pleuraflüssigkeit in das Meerschweinchen einen gashaltigen und gangränösen Absceß reproduzierte. Zwischen der putriden und gangränösen Pleuritis, schließt Dieulafoy, ist die Grenzlinie keine absolute, da die Fäulnis und das Absterben sich nebeneinander oder nacheinander entwickeln können.

1) Dieulafoy, Les pleurésies ozéneuses. (Sem. méd. 1900.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach der Klassifikation von Dieulafoy nähert sich unser Fall mehr der putriden als der fötiden Pleuritis, denn wir haben gesehen, daß in der Pleurahöhle mit dem Eiter Gas vorhanden war und daß sich Gas auch in den Kulturen entwickelte.

Die Kenntnis der putriden Pleuritiden hat ein bedeutendes Interesse unter dem Gesichtspunkt der Pathogenese des sogenannten spontanen Pneumothorax. Da die Pleura normalerweise eine abgeschlossene Höhle darstellt, setzt das Vorhandensein von Gas in derselben eine Kontinuitätstrennung der Brustwand oder des Lungenparenchyms voraus. Dies ist der eigentliche Pneumothorax. Der Pneumothorax kann aber auch auftreten, ohne daß eine äußere oder innere Kommunikation mit der atmosphärischen Luft bestünde, dann nämlich, wenn eine eiterige Pleuraläsion durch zur Gasentwickelung befähigte Keime bedingt ist, d. h. wenn man eine putride Pleuritis hat. Der Pneumothorax wird in diesem Falle als spontaner bezeichnet und ist ein Pyopneumothorax.

Lange Zeit hindurch war der spontane Pneumothorax Gegenstand von Meinungsverschiedenheiten. Von Bell[1]) und von Itard[2]) geahnt, wurde er von Laënnec[3]) entschieden angenommen. Dieser hervorragende Kliniker war der Ansicht, daß außer durch Traumen der Brustwand, Ruptur subpleuraler Tuberkel oder emphysematöser Alveolen der Pneumothorax bedingt werden könnte durch Zersetzung tuberkulöser Produkte, durch Zersetzung eines in die Pleura abgefallenen gangränösen Schorfes der Lunge, durch Pleuragangrän, durch Zersetzung des Blutes.

Diese Anschauung Laënnecs wurde mehrere Jahre lang von verschiedenen Autoren bekämpft, welche behaupteten, daß in den Fällen von scheinbar spontanem Pyopneumothorax stets eine Bronchien-Pleurafistel bestehen muß, und daß demnach das Gas der Pleurahöhle von der atmosphärischen Luft herstammt. Nur Hérard[4]) und Jaccoud[5]) akzeptierten gegen die Mitte des vorigen Jahrhunderts die Ansichten von Laënnec, ja Hérard lieferte den entscheidenden Beweis für dieselben, da er einen Fall von fötid-eiteriger Pleuritis kompliziert mit Pneumothorax beobachtet hatte, bei der die mit der größten Sorgfalt ausgeführte Autopsie keine Perforation der Lunge nachwies. Trotz der Bestätigung der Anschauungen Laënnecs durch Hérard und Jaccoud wurde das Vorkommen des spontanen Pneumothorax weiter in Abrede gestellt. Erst in den letzten Jahren, in denen die bakteriologischen Untersuchungen die gasbildenden Eigenschaften der Keime der putriden Pleuritiden klarstellten, ist der spontane Pneumothorax von der Allgemeinheit der Autoren zugegeben worden.

In unserem Falle traten, wie wir gesehen haben, infolge der mäßigen Gasbildung klinisch keine Erscheinungen von Pneumothorax auf, bei anderen in der Literatur niedergelegten Fällen aber war die Gasbildung so stark, daß der Pneumothorax das ganze Krankheitsbild beherrschte und mehrmals eine Operationsindikation von äußerster Dringlichkeit bildete.

Die Tatsache also, daß einige eiterige Läsionen durch gaserzeugende Keime gegeben sind, unter denen die Anaëroben den ersten Platz einnehmen, ist von nicht geringer klinischer Wichtigkeit und muß stets in

1) Bell, zit. bei Guillemot, Hallé, Rist, l. c.
2) Itard, zit. bei den nämlichen Autoren.
3) Laënnec, ebenda.
4) Hérard, ebenda.
5) Jaccoud, ebenda.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Rechnung gezogen werden, damit unter gegebenen Umständen diagnostische und prognostische Irrtümer vermieden werden. Ein jeder begreift, welcher Unterschied zwischen einem spontanen Pyopneumothorax und einem Pyopneumothorax durch Perforation eines tuberkulösen oder gangränösen Lungenherdes besteht.

In analoger Weise können gashaltige Eiteransammlungen mit paravisceraler Lokalisation durch die Natur ihres Inhaltes viscerale Perforationsabscesse vortäuschen. In neuester Zeit veröffentlichten Chauffard und Troisier[1]) einen Fall von hemdenknopfförmigem prä- und retrosternalem Gasabsceß, der an eine retrosternale Lungenperforation hätte denken lassen können. Der Absceß wurde inzidiert und der Patient starb. Bei der Sektion wurde keinerlei Perforation der Lunge gefunden. Die bakteriologische Untersuchung des Eiters zeigte, daß das Gas ein Produkt der in demselben enthaltenen Keime war (zwei Anaëroben, nämlich ein zarter Bacillus und ein feiner Diplococcus). Ebenfalls in neuester Zeit beobachtete Alglave[2]) im Verlaufe eines Appendicitisanfalles eine große sonore Anschwellung, welche der Richtung des Leistenkanals folgte und unterhalb deren Schmerz auf Druck und Oedem, Anzeichen eines Abscesses bestand. Der tympanitische Charakter des Leistentumors hatte die Hypothese einer eingeklemmten Hernie des Blinddarmes und des Wurmfortsatzes erwägen lassen. Die Operation zeigte, daß es sich um einen hemdenknopfförmigen Absceß, bestehend aus einem intraperitonealen Eitersack und einer subkutanen, mit dem ersteren durch eine Perforation der Muskelaponeurosenwand des Bauches kommunizierenden Eiter-Gasansammlung, handelte.

Die Intaktheit des Lungenparenchyms, die außer durch die klinische Untersuchung direkt im Moment der Operation konstatiert wurde, ließ uns ausschließen, daß in unserem Falle die putride Pleuritis von einem gangränösen Prozeß der Lunge abhängig sein könnte.

Das Vorkommen von putriden Pleuritiden ohne gangränöse Lungenläsionen ist heute außer Zweifel, wurde früher aber von der Mehrheit der Autoren angefochten. Wie wir oben gesehen haben, hatte Laënnec bereits zu einem ziemlich weit zurückliegenden Zeitpunkte einen Pyopneumothorax durch Pleuragangrän, d. h. eine gangränöse Pleuritis unabhängig von Lungengangrän, angenommen. Obwohl es nun nicht an solchen fehlte, die die Anschauungen von Laënnec akzeptierten, wie z. B. Cruveilhier[3]), Guersant[4]), Rilliet und Barthez[5]), war doch die Mehrzahl der Autoren lange der Ansicht, daß eine putride Pleuritis ohne einen gangränösen Prozeß der Lunge nicht vorkommen könne. Erst 1879 konnte Rendu durch eine mit dem nekroskopischen Befund ausgestattete Beobachtung die Existenz der Pleuragangrän unabhängig von der Lungengangrän nachweisen.

In unserem Falle aber bestand nicht einmal Gangrän der Pleura. Die Kenntnis von Pleuritiden mit fötidem Eiter ohne Lungen- oder Pleuragangrän ist verhältnismäßig neueren Datums, denn erst im Jahre 1878 veröffentlichte Leriche[6]) die erste Beobachtung. Bouveret[7])

1) Chauffard et Troisier, Abcès gazeux etc. (Sem. méd. 1909. No. 40.)
2) Alglave, Un cas d'énorme abcès gazeux etc. (Bull. et mém. de la Soc. anat. de Paris. 1909.)
3) Cruveilhier, Traité d'anat. pathol. générale. Paris 1868.
4) Guersant, zit. bei Guillemot, Hallé, Rist, l. c.
5) Rilliet et Barthez, zit. bei Guillemot, Hallé, Rist, l. c.
6) Leriche, Pleurésies gangréneuses et putrides. [Thèse.] Paris 1878.
7) Bouveret, zit. bei Guillemot, Hallé, Rist a. a. O.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schlug 1888 vor, dieselben als fötide Pleuritiden zu bezeichnen, und Courtois-Suffit[1]) nannte sie 1890 putride Pleuritiden. Die Bezeichnung putride Pleuritiden ist jedoch heute die gebräuchlichste und wird sowohl für Pleuritiden mit fötidem Eiter und gangränösen Läsionen als für die Pleuritiden mit fötidem Eiter ohne die genannten Läsionen angewandt.

Es bleibt noch nachzusehen, welchen Ursprungs die Pleuritis in unserem Falle war, d. h. auf welchem Wege und von wo der beschriebene Keim in die Pleura gelangt ist.

In dieser Hinsicht dürfte es hier am Platze sein, kurz unsere heutigen Kenntnisse über die Pathogenese der putriden Pleuritiden zusammenzufassen unter Innehaltung der unserer Ansicht nach rationellen Klassifikation, die Guillemot, Hallé und Rist in Vorschlag gebracht haben.

Diese Autoren unterscheiden unter dem Gesichtspunkte der Pathogenese drei Kategorieen, nämlich: 1) Putride Pleuritiden, konsekutiv zu einer primären oder sekundären gangränösen Affektion der Lunge. Die Lungengangrän spielt dabei die Hauptrolle, in zweiter Linie kommen die Bronchiektasieen, fötiden Bronchitiden, die Bronchopneumonieen und die mit Gangrän komplizierten Pneumonieen, die tuberkulöse Infiltration oder die sekundär gangränösen tuberkulösen Kavernen; zuletzt die seltenen Affektionen wie syphilitisches Gumma mit Fistelgangrän, Echinococcus-Cyste, Lungenkrebs. In all diesen Fällen kann die Infektion der Pleura direkt durch Ruptur einer gangränösen Höhle oder indirekt durch Kontiguität, Kontinuität geschehen. 2) Putride Pleuritiden abdominalen Ursprungs, d. h. konsekutiv zu Eiterungen der Leber und der Gallenwege, Appendicitiden, gangränösen Enteritiden, puerperalen Peritonitiden, Eiterungen der Uterusadnexe, perirenalen Phlegmonen, vereiterten Pyelonephritiden etc. Die Pleura kann direkt durch Ruptur, z. B. eines Leberherdes, durch das Zwerchfell hindurch oder indirekt durch die Lymphbahn invadiert werden. 2) Putride Pleuritiden embolischen Ursprungs, d. h. erzeugt durch Keime, die auf dem Blutwege von putriden Eiterherden mehr oder weniger entfernter Organe, wie z. B. von Otitiden oder Mastoiditiden, Eiterungen der Gesichtshöhlen, Anginen, Phlegmonen und Abscessen dentären Ursprungs, Appendicitiden, Leberabscessen, vereiterten Ovariosalpingitiden, perinealen Phlegmonen durch Harninfiltrationen etc. kommen.

In unserem Falle bestand keinerlei bronchopulmonäre Läsion noch eine solche der Bauchorgane, wohl aber eine chronische fötide Otorrhöe mit leichter Mastoiditis, ein Prozeß, der sich wenige Tage vor dem Auftreten der Pleuritis wieder verschärft hatte. Ich machte nicht die bakteriologische Untersuchung des Eiters des Ohres, weil, als ich im Laufe der Arbeit die Nützlichkeit einer derartigen Untersuchung sah, die Otorrhöe bereits unter den abundanten endoaurikulären Irrigationen mit Natriumborat und Wasserstoffsuperoxyd gewichen war. Immerhin glaube ich mit aller Wahrscheinlichkeit in Ermangelung von sonstigen Herden, daß der Keim von dem Ohr aus in die Pleura gelangt ist. Diese Aetiologie hatte einer der von Guillemot, Hallé und Rist beschriebenen Fälle (10. Fall).

Die Bedeutung der Anaëroben bei einigen Otitis- und Mastoiditisformen ist durch Veillon-Zuber und eingehender noch durch Rist

1) Courtois-Suffit, zit. bei Guillemot, Hallé, Rist, a. a. O.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nachgewiesen worden. Wir bemerken hier nebenbei, daß die Anaëroben der Otitiden außer in die Pleura in das Gehirn und die Hirnhäute wandern und Eiterungen auch ohne Beteiligung der Aëroben bedingen können (siehe Fälle von Ghon, Mucha und Müller), oder in die Lunge und Ursache der Lungengangrän werden (Guillemot). Es wird allgemein angenommen, daß die Anaëroben der Otitiden in das Ohr durch die Eustachische Röhre aus der Mundhöhle gelangen, wo bekanntlich eine reiche Anaërobenflora besteht, über die in den letzten Jahren zahlreiche Arbeiten erschienen sind. Rist hat in der Tat nachgewiesen, daß die Mehrzahl der Bakterienspecies der Otitiden in der Mundhöhle ansässigen Formen entspricht. Diese Bakterien, welche im Munde im saprophytischen Zustande leben, müssen nach Rist aus wenig bekannten Ursachen plötzlich virulent werden, in derselben Weise wie pathogene aërobe Keime (Pneumococcus, Diphtheriebacillus) in saprophytischem Zustande im Munde und in den ersten Luftwegen angetroffen werden können.

Aus dem Vorstehenden ergibt sich, daß die putriden Pleuritiden stets sekundär sind. Zuweilen ist es auch bei einer höchst sorgfältigen klinischen Untersuchung äußerst schwierig, den Ursprungsherd zu finden und die Pleuritis kann dann als primäre imponieren. Es ist einleuchtend, daß die Fälle, welche nicht auf den Anatomietisch kommen, sich schlecht zur Lösung der Frage eignen. Die eingehende Sektion kann kleinste Herde nachweisen, welche klinisch keine Symptome von sich geben.

Die Autoren, welche sich früher mit dem Studium der putriden Pleuritiden beschäftigten, nahmen an, die Eigenschaft der Putridität sei etwas Nebensächliches, das erst sekundär bei den gewöhnlichen eiterigen Pleuritiden durch das Eingreifen banaler Keime, der sogenannten Saprogenen oder Fäulniserreger, auftrete. Daß eine gewöhnliche eiterige Pleuritis sekundär durch die Ankunft der Saprogenen putrid werden kann, dürfte niemand in Abrede stellen, ebenso ist aber eine von Anfang an putride Pleuritis anzunehmen, wie neben der meinigen einige in der Literatur niedergelegte Beobachtungen dartun.

Auszuschließen ist die Möglichkeit, daß der anaërobe Keim durch die 2 Tage vorher auf der medizinischen Klinik, von der der Patient kam, vorgenommene Probepunktion in die Pleura gelangt sein könnte. Abgesehen von der Gewissenhaftigkeit, mit der in diesem wie in jedem anderen wissenschaftlichen Institute diese diagnostische Probe gemacht wird, steht es fest, daß der durch die Probepunktion extrahierte Eiter, wie wir bereits in der Krankengeschichte gesagt haben, die nämlichen Eigenschaften (Fötor, Farbe, Dichte) des bei der Operation extrahierten Eiters hatte.

In unserem Falle blieben die auf verschiedenen Nährböden angelegten aëroben Kulturen steril. Der Einwand, daß die Aëroben, d. h. die gewöhnlichen Eitererreger, anfänglich als Erreger der eiterigen Läsion vorhanden und späterhin durch vitale Konkurrenz abgestorben sein könnten, entbehrt der Grundlage, da wir bei der mikroskopischen Untersuchung des Eiters keine Spur davon fanden. Andererseits haben Untersuchungen aus der letzten Zeit gezeigt, daß mehrere anaërobe Keime pyogene Eigenschaften besitzen: Um uns auf die Pleuritiden zu beschränken, genügt es, an die experimentellen Untersuchungen von Guillemot, Hallé und Rist zu erinnern, welche allein mit anaëroben Keimen bei den Tieren die typische putrid-eiterige Pleuritis reprodu-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zierten. Mit Gewalt die aëroben Eitererreger in unserem Falle ins Spiel ziehen zu wollen, scheint uns demnach durchaus willkürlich.

In den Fällen von eiterigen Affektionen im allgemeinen, bei denen die bakteriologische Untersuchung Anwesenheit von Aëroben und Anëroben nachweist, läßt sich nicht mit Genauigkeit feststellen, welche Rolle den letzteren bei der Erzeugung der Krankheit zukommt, in den Fällen aber, in denen die Anaëroben allein sind, hat ihre pathogene Bedeutung keinen weiteren Beweis nötig.

Die Beobachtungen von Läsionen mit ausschließlich anaëroben Keimen sind seltener als diejenigen, bei denen sich Aëroben und Anaëroben zusammenfinden. In bezug auf die putriden Pleuritiden haben wir gesehen, daß Guillemot, Hallé und Rist 5 Fälle nur mit Anaëroben fanden und 8, in denen die Anaëroben mit Aëroben vergesellschaftet waren (meistens mit dem Streptococcus des Speichels). Bei der Lungengangrän fand Guillemot resp. 1 und 13, bei Appendicitiden Veillon und Zuber 2 und 19, bei Harninfiltrationen und Abscessen Albarran und Cottet 7 und 25, bei Zahncaries und zu derselben gehörenden Läsionen Monier 2 und 11; Gaudiani fand neuestens bei vielen Eiterungen 9 Fälle, in denen mit den Aëroben Anaërobe vergesellschaftet waren, keinen aber mit ausschließlich anaëroben Keimen.

Unter diesem Gesichtspunkte ist also unsere Beobachtung von besonderem Interesse. Bei den putriden Pleuritiden sind also die Saprogenen oder, was dasselbe ist, die Anaëroben wie bei anderen Läsionen keine banalen Keime, sondern verdienen unsere volle Aufmerksamkeit als wesentliche Erreger der Läsionen selbst.

Aus unserer Studie geht die Notwendigkeit hervor, bei Untersuchung der Erreger eiteriger Prozesse niemals die anaëroben Kulturen zu unterlassen, besonders wenn die Eiterung fötide, gasbildende oder gangränöse Charaktere hat. Hätten wir uns auf die aërobe Züchtung des Eiters beschränkt, so wären wir zu einem falschen Schlusse gelangt und hätten zur Erklärung des negativen Resultates das Absterben der Keime herangezogen. Wieviel Mal ist es nicht vorgekommen, namentlich bei den Leberabscessen, daß die Abscesse selbst für steril gehalten wurden, während aller Wahrscheinlichkeit nach die Erreger streng anaërobe Keime waren? Die fötiden Eiteransammlungen wurden früher, namentlich wenn sie in mehr oder weniger unmittelbarem Zusammenhang mit dem Darmkanal standen, als durch das Bacterium coli erzeugt betrachtet: Neuere Forschungen haben gezeigt, daß sie häufig durch anaërobe Keime der Darmflora gegeben sind.

Hieraus ist zu ersehen, daß das Kapitel von der Aetiologie der Eiterungen ganz neu zu bearbeiten ist: Dem Staphylococcus, Streptococcus und Colibacillus ist früher eine bedeutend ausgedehntere Aufgabe zugeschrieben worden, als es in Wirklichkeit zutrifft.

Zusammenfassung.

Unsere bakteriologische Untersuchung weist mehrere interessante Daten auf, nämlich:

1) Sie bringt einen Beitrag zur Aetiologie der putriden Pleuritiden. Wir haben gesehen, wie spärlich die vollständigen bakteriologischen Untersuchungen der genannten Läsion sind.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Aller Wahrscheinlichkeit nach lehrt sie eine neue streng anaërobe Bakterienform kennen und beweist damit, daß die pathogene anaërobe Flora viel reicher sein muß, als es jetzt den Anschein hat.

3) Durch das Fehlen aërober Keime beweist sie in einwandsfreier Weise die wesentliche Rolle, welche die Anaëroben bei Erzeugung der putriden Pleuritiden im besonderen und der putriden Eiterungen im allgemeinen spielen.

Nachdruck verboten.

Observations microscopiques sur la „Verruga peruana" ou „Maladie de Carrion".

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Avec 3 figures.

Grâce à l'obligeance de mes collègues MM. les Drs. E. L. Congrains et R. Arias de Lima, que je remercie vivement ici, j'ai pu avoir en été et en automne de cette année, du matériel provenant de cas de Verruga peruana, et plus précisément:

a) Une verrue provenant de G. Suar . . . indien âgé de 28 ans, originaire de Sorco-Huamba (Pérou). Ce patient, hospitalisé à l'Hôpital de Guadaloupe (Callao) le 19 juin 1910, avait travaillé 4 mois auparavant à Santa Eulalia (1000 m. s. m. au commencement de la zone à Verruga peruana). Après un mois de séjour dans cet endroit, il voit apparaître une verrue à la région malaire gauche, suivie par d'autres sur d'autres parties du corps.

b) Frottis de sang provenant de S. March . . . indien âgé de 18 ans, originaire de Pomabamba (Pérou). Ce patient, hospitalisé à l'Hôpital militaire de S. Bartolomé comme atteint de grippe, le 27 septembre 1910, souffre depuis 3 mois de Verruga peruana, sans fièvre. Le sang a été pris le 1er octobre 1910.

c) Frottis de sang provenant de B. Bohor . . . indien âgé de 20 ans, originaire de Canta (Pérou). Ce patient, hospitalisé à l'Hôpital militaire de S. Bartolomé le 28 septembre 1910, est atteint de Verruga peruana fébrile dépuis le mois d'octobre de 1909. La marche actuelle de sa température est la suivante:

Date	Matin	Soir
29 septembre	38,8°	40,0°
30 septembre	39,0°	38,8°
1er octobre	38,4°	39,0°

Tout ce matériel, m'a servi pour des examens microscopiques, dont voici les résultats:

a) La verrue du premier cas, est une verrue du type «mulaire» (Forma mular), conservée dans une solution de formaline 10 %. Elle a la forme d'un chapeau de champignon, d'un diamètre de cm. 2 1/2, à surface rugueuse. Incisée, j'ai pris dans les parties profondes un peu de matériel dont une partie m'a servi pour faire des frottis destinés à être colorés avec les différentes couleurs d'aniline, l'autre partie dans

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

un peu d'eau stérilisée, a servi pour faire des frottis à l'encre de chine (méthode de Burri).

Dans les frottis traités par le bleu au thymol, j'ai trouvé par ci par là de fins bâtonnets, très légèrement colorés en bleu. Ces bâtonnets se coloraient encore mieux par le Gram et par la fuchsine phéniquée de Ziehl. Dans les préparations au Leishman, ils étaient colorés en rouge-violacé.

Colorés à chaud par la fuchsine phéniquée, et décolorés par l'acide nitrique au tiers, ils résistaient à la décoloration, tout en prenant une coloration rouge plus faible que celle qu'on remarque dans M. tuberculosis traité par le même procédé et ça peut-être à cause du mode de leur conservation. En outre, si après les avoir ainsi colorés, on faisait une double coloration au bleu au thymol, le bleu se fixait en partie sur ces bâtonnets, qui apparaissaient rouge-violacés. Ces bâtonnets sont extracellulaires, isolés ou en petits amas, très grêles, un peu recourbés, souvent avec une des extrémités légèrement renflée en massue (Fig. 1*a*). Ils ressemblent beaucoup par leurs formes et dimensions à M. tuberculosis, mais ils se colorent uniformément, sans présenter de granulations. Dans les frottis préparés par la méthode de Burri, ils apparaissent plus trapus, à massue plus nette, parfois avec des formes irrégulières (formes involutives? Fig. 1*b*).

Dans tous les frottis, je n'ai point trouvé d'autres formes pouvant laisser penser à des parasites.

Avec des morceaux de cette même verrue, j'ai fait des coupes.

Dans les coupes colorées au carmin aluné, la verrue présentait la structure d'un tissu de granulations, avec de fines travées de tissu conjonctif, et beaucoup de vacuoles. L'épiderme était mince dans certains points, comme en voie d'atrophie. Il n'y avait point de cellules géantes.

Dans les coupes colorées au bleu au thymol, à la thionine phéniquée, au Gram, à la fuchsine phéniquée avec ou sans décoloration par l'acide nitrique au tiers; au Giemsa, il m'a été impossible de colorer ni la bactérie vue dans les frottis ni d'autres éléments parasitaires. Ce n'est que dans les coupes colorées 24 heures à 37° dans la fuchsine anilinée d'Ehrlich et traitées après par le bleu de Fraenkel-Gabbet, que j'ai trouvé les mêmes bâtonnets déjà trouvés dans les frottis. Ils étaient très peu nombreux, disséminés par ci par là en de petits groupes extracellulaires (Fig. 1*c*). Ils n'avaient pas une belle coloration rouge, mais une coloration rouge-jaunâtre.

Les constatations que je viens de faire, concordent avec celles faites par Letulle en 1898[1]). Cet auteur a en effet signalé, dans des verrues provenant de cas de Verruga peruana, la présence de bactéries analogues à M. tuberculosis. Quelque temps après, Ch. Nicolle[2]), examinant des fragments de foie, reins, poumons, rate et ganglions, provenant d'un cas de Maladie de Carrion, y trouvait, sauf dans les reins, un bâtonnet acido-résistant, un peu plus épais que M. tuberculosis. Ces bactéries étaient libres ou dans des phagocytes mononucléaires, dans lesquels, pourtant, il n'y en avait pas plus de deux. Il n'en a pas vu dans les cellules géantes, bien qu'il ait trouvé de ces cellules dans le foie. Ces observations ont été ensuite confirmées par Odriozola[3]).

1) Société de biologie. Séance du 16 juillet 1898.
2) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898. p. 591.
3) Cité dans Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 24. 1898. p. 889.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Les quelques préparations de sang provenant du cas *b* ont été par moi colorées à la fuchsine phéniquée, à la fuchsine phéniquée suivie par la décoloration à l'acide nitrique au tiers et enfin 24 heures dans le Giemsa dilué 1 : 10. Dans les préparations colorées à la fuchsine, je n'ai point trouvé de bactéries ni d'embryons de nématodes.

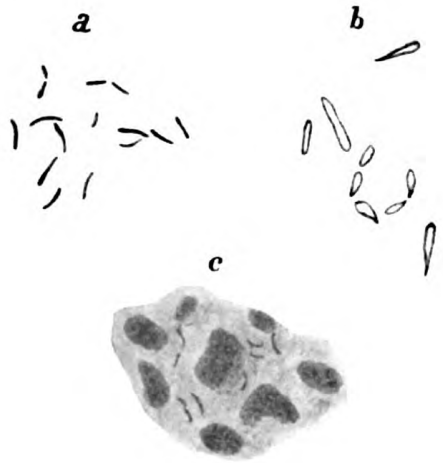


Fig. 1.

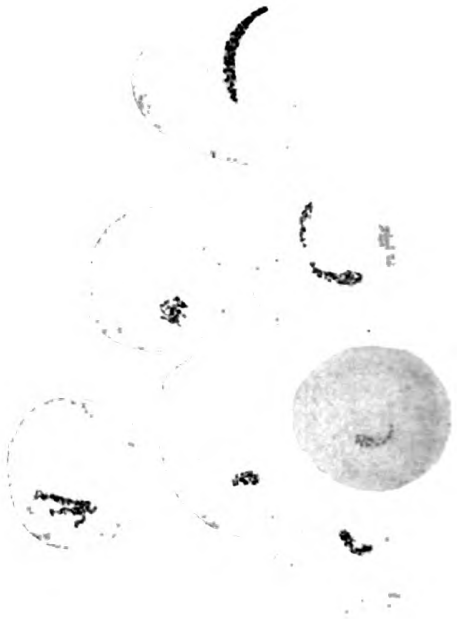


Fig. 2.

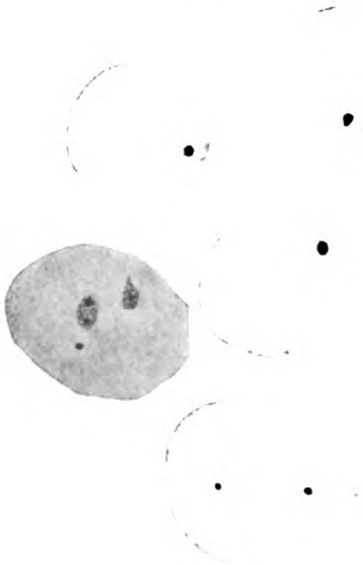


Fig. 3.

Fig. 1. Oc. comp. 6. ob. imm. hom. 2 mm. Tubes 170 mm.
Fig. 2. Idem, mais avec Oc. comp. 18.
Fig. 3. Comme la Fig. 2.

Dans les préparations colorées au Giemsa, au contraire, voici ce que j'ai pu constater: Dans plusieurs globules rouges, faiblement colorés en rose, il y avait des granulations très fines, irrégulières, colorées en rouge-violacé et différemment disposées (Fig. 2). Les unes étaient en amas irréguliers ou en rosettes, d'autres presque en demi-lune, d'autres en forme presque de poire. D'un globule rouge écrasé, on voyait sortir comme une masse fusiforme formée par ces granulations. A côté de ces granulations, on ne remarquait aucune trace de pigment.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ces figures ressemblent tout à fait à celles vues par Mayer[1]) dans un cas de Maladie de Carrion et qui, suivant cet observateur, avaient été déjà signalées par Biffi, Bassett-Smith et De' Vecchi.

c) Les préparations de sang provenant du cas *c* ont été traitées comme celles provenant du cas *b*. Dans ce cas aussi, les préparations à la fuchsine ne m'ont montré ni bactéries ni larves de nématodes.

Dans les préparations au Giemsa, voici ce que j'ai observé: Dans quelques globules rouges on remarquait la présence de 1 ou 2 petits corpuscules de la dimension d'en gros microcoque, fortement colorés en rouge-violacé et entourés d'une auréole claire. Ces corpuscules ressemblaient énormement à l'Anaplasma marginale décrit et figuré par Theiler dans les érythrocytes des bovidés africains[2]). Dans un seul globule, j'ai trouvé en même temps qu'un de ces corpuscules, deux amas de granulations analogues à celles trouvées dans le cas *b*.

Quelle est la signification des bactéries et des corpuscules observés dans ces trois cas de Verruga peruana? Il n'est pas possible de tirer des conclusions du peu de matériel que j'ai pu examiner.

La constatation de la présence de bactéries acido-résistantes dans les néoformations cutanées de la Maladie de Carrion, tout en confirmant les observations faites surtout par Letulle, laisse toujours ouverte la question, si les dites bactéries sont l'agent spécifique de la néoformation, ou si elles ne sont que des saprophytes. Le fait que d'autres observateurs n'ont pas trouvé ces bactéries dans les lésions de Verruga peruana, parlerait plutôt en faveur de cette seconde hypothèse. Il faudrait alors se demander si des bactéries acido-résistantes, vivantes en saprophytes sur et dans la peau des certains individus, ne trouveraient pas, peut-être, dans les néoformations de Verruga, un milieu favorable à leur développement.

Quant aux corpuscules trouvés dans les globules rouges du cas *b*, sont-ils des parasites ou plutôt des produits de dégénérescence du protoplasma des érythrocytes, comme tendent à l'admettre Biffi, De' Vecchi et Mayer? Il n'y a pas de doute, que leurs formes très irrégulières et leurs curieuses dispositions, font pencher vers la seconde hypothèse. Mais les corpuscules que j'ai observé dans le cas *c*, avec leur forme assez régulière, leur auréole claire, leur ressemblance avec Anaplasma marginale des bovidés, peuvent plus facilement faire penser à de véritables parasites. Le fait que dans un globule rouge, un de ces corpuscules était accompagnée par des granulations analogues à celles du cas *b*, pourrait faire penser que l'agent parasitaire, représenté par les corpuscules à auréole et qu'on rencontrerait plus facilement dans les cas fébriles (cas *c*), serait capable de provoquer les altérations des érythrocytes observées dans le cas *b* (cas sans fièvre).

Mais d'autres doutes peuvent, pour le moment, être encore soulevés: On pourrait, en effet, demander, comme Biffi l'a fait[3]), si Verruga peruana et Maladie de Carrion, sont bien une seule maladie et non deux maladies, déterminées par des parasites différentes, et aussi si les corpuscules trouvés dans les globules rouges sont bien en relation avec ces deux affections ou au contraire, en relation avec une affection

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. p. 309.
2) Report of the Government Veter. Bacteriologist for the year 1908—1909. Pl. VI. Pretoria 1910.
3) Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12. 1908. p. 1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

concomitante. Le problème de l'étiologie de la Verruga peruana est donc encore loin d'une solution.

Conclusions.

1. Dans une verrue (Forme mulaire) provenant d'un cas de Verruga peruana, j'ai trouvé un bactérium acido-résistant.

2. Dans le sang provenant de deux cas de Maladie de Carrion, il y avait dans les globules rouges, dans l'un des corpuscules analogues à ceux observés par Biffi, Basset-Smith, De' Vecchi et Mayer, dans l'autre des corpuscules à auréole claire, se rapprochant de par leur aspect, d'Anaplasma marginale des bovidés.

Lausanne, 22 décembre 1910.

Nachdruck verboten.

Tableaux dressés sur les données fournies par 9486 observations cliniques et 4287 au microscope faites l'anneé dernière 1910.

Par le Dr. **Jean P. Cardamatis,**
Professeur agrégé des maladies des pays chauds à l'Université d'Athènes.
Secrétaire Général de la Ligue antimalarienne Hellénique.

Observations cliniques.

Du 1er Mars au 1 Décembre 1910 j'ai examiné au point de vue du paludisme et sur les lieux 9486 habitants des localités ci-dessous et fait les constatations suivantes:

Ile, Villes, lieux-dits ou villages		Nombre de sujets examinés	Totaux
Athénes	Vatrachonission	269	= 1294
	Pangration	270	
	Ampelokipi	25	
	Averophion	30	
	Phalère	500	
	Quartiers différentes	200	
Euxinoupolis		1466	= 1466
Anchialos		5265	= 5265
Provinces différentes		200	= 200
Ile Eubée	Lieux différentes	1017	= 1261
	Achmetaga	65	
	Mantoudi	46	
	Skiloyianni	87	
	Kria Vrissi	46	
		9486	9486

* * *

Sur les 9486 sujets j'ai examiné l'état de la rate de 6096 sujets. (citoyens, paysans, ouvriers, écoliers, etc. etc.) et j'en ai trouvé 1280 (20,99 %) atteints de gonflement de la rate; comme il suit:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Villes, villages, etc.	Nombre de sujets		Proportions %
	examinés	atteints de gonflement de la rate	
Athènes	539	0	0
Phalère	100	26	26
Ile Eubée	1261	542	42,98
Anchialos	3470	608	17,52
Euxinoupolis	216	55	25,46
Provinces différentes	110	49	44,54
	5696	1280	24,24

Ensemble par saison:

Saisons	Nombre de sujets		Proportions %
	examinés	atteints de gonflement de la rate	
Printemps	1524	487	31,95
Été	1477	597	40,41
Automne	3095	196	6,33
	6096	1280	20,99

Se répartissant comme suit quant aux localités et par saison:

Villes, villages, etc.	Nombre de sujets		Proportions %
	examinés	atteints de gonflement de la rate	
Printemps.			
Athènes	269	0	0
Phalère	50	6	12
Anchialos	1205	481	39,88
	1524	487	31,95
Été.			
Euxinoupolis	216	55	25,46
Eubée	1017	444	43,65
Achmetaga	65	19	13,20
Mantoudi	46	18	39,13
Skiloyianni	87	44	75,86
Kria Vrissi	46	17	36,95
	1477	597	40,41
Automne.			
Athènes	270	0	0
Phalère	50	20	40
Anchialos	2665	127	4,76
Provinces différentes	110	49	44,54
	3095	196	6,35

* * *

Observations faites au microscope.

Sur les 9486 sujets, j'ai examiné le sang en préparations sèches de 4287 sujets et j'ai constaté l'existence d'hématozoaires dans le sang de périphérie chez 1044 sujets, soit une proportion de 24,35 % de sujets infectés.

J'ai trouvé par saison:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Saisons	Nombre de sujets		Proportions %
	examinés	infectés	
Printemps	986	412	41,78
Été	1420	371	26,12
Automne	1881	261	13,89
	4287	1044	24,35

L'examen par espèces de parasites a donné:

Sujets infectés	Espèces des plasmodes	Proportions %
310	Plasmodes vivax	29,69
573	„ praecox	54,87
129	„ quart	12,35
32	Infection mixte	3,06
1044		

Par saisons et par espèces de plasmodes étaient infectés comme il suit:

Saisons	Vivax	Praecox	De la quart	Infection mixte	Total
Printemps	146	188	58	20	= 412
Été	118	210	35	8	= 371
Automne	46	175	36	4	= 261
	310	573	129	32	= 1044

J'ai trouvé pour les infections la répartition suivante par mois et par espèces de plasmodes:

Mois	Vivax	Praecox	Quart	Infection mixte	Total
Mars	38	75	26	12	= 151
Avril	89	107	24	8	= 228
Mai	19	6	8	0	= 33
Juin	41	56	17	0	= 114
Juillet	42	68	9	4	= 123
Août	35	76	9	4	= 124
Septembre	23	38	9	0	= 70
Octobre	14	53	11	2	= 80
Novembre	9	94	16	2	= 121
	310	573	129	32	= 1044

Nachdruck verboten.

Vorläufige Bemerkungen über Amöben aus Manila und Saigon.

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]

Von **Eugene R. Whitmore.**

Während der letzten Monate habe ich Amöbenmaterial, das ich selbst gesammelt habe, um es unter Prof. Hartmanns Anleitung zu bearbeiten, aus verschiedenen Quellen Manilas und Saigons studiert. Das Material aus Manila bestand aus Ausstrichpräparaten aus dem Stuhlgang von Ruhrkranken und Kulturen von Amöben auf Musgraves Medium, die aus dem Leitungswasser, Sumpfwasser, aus dem Stuhlgang

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Ruhrkranken und aus dem Eiter von Leberabscessen gezüchtet wurden.

Das Material aus Saigon bestand aus Ausstrichpräparaten aus dem Stuhlgang Ruhrkranker.

Ein Fall aus Manila zeigte nur Entamoeba coli, und ich konnte alle Stadien von der vegetativen Amöbe bis zur Ausbildung achtkerniger Cysten finden. Dabei fanden sich auch mehrkernige (3—8 Kerne) vegetative Formen, die jedoch nicht, wie Schaudinn bei der europäischen Entamoeba coli angab, durch multiple Kernteilung, sondern durch fortgesetzte Zweiteilung des Kernes zustande kommen. Auffallend war auch das Vorkommen von Cysten mit 13—16 Kernen. Vielleicht handelt es sich um eine neue Art oder Varietät der Entamoeba coli.

Zwei Fälle zeigten nur Entamoeba tetragena; in einem Falle waren nur vegetative Formen vorhanden, in dem anderen Falle fand ich alle Stadien vom vegetativen bis zu den vierkernigen Cysten, die Viereck und Hartmann beschrieben haben.

Die Kulturamöben aus Manila, auch die aus Faeces und Absceßeiter gezüchteten, waren untereinander verschieden, doch alle waren vom Limax-Typ mit dem typischen Karyosomkern und bildeten Cysten mit einem Kern. Die Ansicht Hartmanns, daß diese Amöben nichts mit den parasitären zu tun haben, wird somit bestätigt.

In zwei Fällen waren die Amöben in einer solch geringen Anzahl anwesend, und das Material war so gering, daß es nicht möglich war, eine befriedigende Untersuchung machen zu können. Aber man kann in diesen zwei Fällen mit Leichtigkeit sehen, daß der Kern den Bau des Kernes der Entamöben hat und vollständig von dem Kern der Limax-Amöben abweicht, wie der Vergleich mit allen Kulturamöben zeigt. Vielleicht handelt es sich in einem der Fälle um Entamoeba histolytica[1]).

Das Material aus Saigon war mehrere Stunden alt, als die Ausstriche gemacht wurden, so daß das Plasma der Amöben anfing, zu schrumpfen, aber der Kern färbte sich gut, und ich bin in der Lage, zu sagen, daß Entamoeba tetragena in einem der Saigonausstriche mit Sicherheit festzustellen ist.

Wir können daher zu den Orten, aus denen das Vorhandensein von Entamoeba tetragena bereits als die Ursache von Ruhr berichtet worden ist, Manila und Saigon hinzufügen.

Ferner können wir sagen, daß die aus Manila erhaltenen, aus verschiedenen Quellen stammenden Kulturen alle den Limax-Typ aufweisen und nicht das geringste mit den Amöben, die parasitisch in den menschlichen Därmen sich finden, zu tun haben.

Die ausführlichen Arbeiten werden im Archiv für Protistenkunde veröffentlicht werden.

---

1) Bei diesem Falle wurde nachträglich eine Cyste von Entamoeba tetragena gefunden, so daß es sich sicher auch um diese Form handelt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Observations on fungi of the genus Endomyces affecting man in the tropics.

By Prof. **Aldo Castellani**, M. D.,
Director, Clinic for Tropical diseases, Colombo (Ceylon).

With 1 figure.

In this paper I propose to give briefly the principal cultural characters and sugar reactions of the various species of Endomyces I have so far isolated in Ceylon from cases of bronchomycosis. Altogether I have isolated and grown 22 strains. All of them are Gram positive and as regards microscopical appearances and characters of the cultures on most solid media they closely resemble Endomyces albicans and Endomyces lactis. The growth on agar and various sugar agars is of a creamy white colour and very abundant especially on slightly acid media: on serum, which is never liquefied, the growth of some strains occasionally shows a darkish pigmentation. The surface growth on solid media is composed of globular yeast-like cells and very few short mycelial articles. The mycelium is somewhat more abundant in the water of condensation. In contrast to Endomyces albicans and Endomyces lactis, none of the 22 strains I have isolated liquefies gelatine, and only 3 out of the 22 affect milk.

Of the 22 strains I have isolated 14 are identical to each other and correspond to the Endomyces which I described some time ago under

	Litmus milk	Glucose	Laevulose	Maltose	Galactose	Saccharose
Endomyces tropicalis Strn 1	0	AG	AG	AG	AG[5]	AG
" " " 2	0	"	"	"	" [6]	"
" " " 3	0	"	"	"	" [6]	" [6]
" " " 4	0[4]	"	"	"	" [6]	"
" " " 5	0[4]	"	"	"	" [6]	"
" " " 6	0	"	"	"	" [6]	" [6]
" " " 7	0[5]	"	"	"	" [6]	" [6]
" " " 8	0[5]	"	"	"	" [6]	" [6]
" " " 9	0[5]	"	"	"	" [7]	" [5]
" " " 10	0[4]	"	"	"	"	" [7]
" " " 11	0	"	"	"	"	" [7]
" " " 12	0[4]	"	"	"	" [6]	" [6]
" " " 13	0[4]	"	"	"	" [6]	" [6]
" " " 14	0	"	"	"	" [6]	"
Endomyces pseudotropicalis A	AC	"	"	0	" [6]	"
" " B	Alk. pep.[10]	"	"	AG	" [6]	0
" " C	DC[11]	"	"	A	A	A
Endomyces paratropicalis A	0[4]	"	"	AG	AG	AG
" " B	0	"	"	0	0	0
" " C	0[5]	"	A	A	A	AG
" " D	0[5]	"	AG	"	AG[6]	"
" " E	0	"	"	AG	"	"

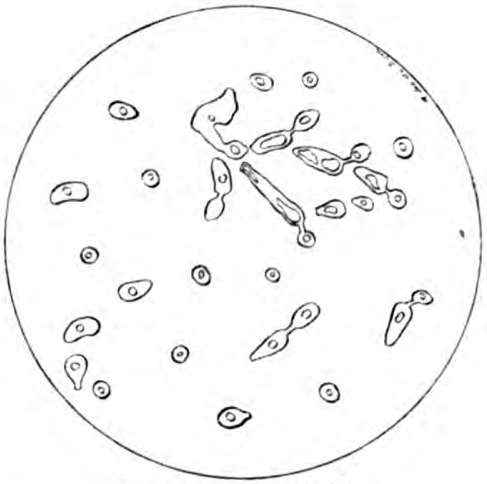
Abbreviations used in the table: A Production of acid. G Production of gas. media or non-liquefaction of gelatine or serum as the case may be.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

the name of Endomyces tropicalis. The other eight differ from Endomyces tropicalis as well as from each other. For convenience's sake I have divided these 8 Endomyces into two groups: those affecting milk, and those having no action on milk. The first group I indicate with the name of Endomyces pseudo-tropicalis, the second group with the name of Endomyces para tropicalis.

The sugar reactions of all the strains of Endomyces I have so far isolated are collected in the following table.

The above table shows that none of the 22 strains is Endomyces albicans of Endomyces lactis: in contrast to these none of the 14 strains of Endomyces tropicalis and none of the five varieties of Endomyces paratropicalis affects milk (30 days) or liquefies gelatine; the three varieties of Endomyces pseudo-tropicalis affect milk but do not liquefy gelatine. The table also shows that the three strains collected under the term Endomyces pseudo-tropicalis are probably 3 different species which might temporarily be indicated by the term Endo-



Endomyces tropicalis.

Lactose	Mannite	Dulcite	Dextrin	Raffinose	Arabinose	Adonite	Inulin	Broth	Peptone water	Indole	Gram	Gelatine	Serum	Notes
O	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	+	0^9	0	1) Clear. Thin pellicle.
O	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	+	0^9	0	2) Clear. Good bottom growth. No pellicle.
O	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	+	0^9	0	
O	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	+	0^9	0	3) Practically no growth.
O	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	+	0^9	0	4) If any change, slightly alkalin.
O	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	+	0^9	0	5) Alkaline in 7 days.
O	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	+	0^9	0	6) Trace only.
O	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	+	0^9	0	7) Acid and gas in 24 hours.
O	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	+	0^9	0	8) Inner tube full in 48 hours.
O	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	+	0^9	0	9) Non-liquefied in 3 weeks.
O	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	+	0^9	0	10) Alkaline then peptonisation.
O	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	+	0^9	0	11) Decolourised. Clot in 5 days.
O	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	+	0^9	0	
O	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	+	0^9	0	
A G	0	0	0	0?	0	0	0	3	3	0	+	0^9	0	
O	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0	+	0^9	0	
A	A	0	A	A	0	0	0	1	2	0	+	0^9	0	
O	0	0	A^6	0	0	0	0	1	2	0	+	0^9	0	
O	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0	+	0^9	0	
O	0	0	0	AG^6	0	0	0	2	2	0	+	0^9	0	
O	0	0	0	„ ^{6}	0	0	A^6	2	2	0	+	0^9	0	
A	0	0	0	„	0	0	0	2	2	0	+	0^9	0	

0 Negative result, viz: Neither acid nor clot in milk, neither acid nor gas in sugar

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

myces pseudo-tropicalis A, E. pseudo-tropicalis B, E. pseudo-tropicalis C. In the same way the five strains collected under the name of Endomyces paratropicalis are five different species which might be differentiated by the terms Endomyces paratropicalis A, E. paratropicalis B, E. paratropicalis C, E. paratropicalis D, and E. paratropicalis E. — As regards the pathogenicity of the various strains the experiments are not yet complete, but even at the present stage of the investigation I believe I am justified in stating that Endomyces tropicalis and E. paratropicalis are pathogenic to man, while the pathogenicity of Endomyces pseudo-tropicalis is not certain.

Conclusion.

The Endomyces affecting man in Ceylon do not belong to a single species, but to several: I have been able so far to isolate nine different species. It might perhaps be worth while to carry out similar researches in temperate zones to determine whether there also there is a plurality of species of Endomyces affecting man.

Reference.

Castellani, Philippine Journ. of Scienc. Juli 1910.

Nachdruck verboten.

Zur bakteriologischen Typhusdiagnose.

Schlußbemerkung.

Von Prof. **H. Conradi.**

In dieser Zeitschrift (Bd. 56. Heft 3 u. 4) führte ich aus, daß die Arbeit von Georg Mayer (München) über die Bekämpfung des Typhus und Paratyphus meine Prioritätsrechte nicht beachtet habe. Diesen Vorwurf sucht seine neuerliche Veröffentlichung (diese Zeitschrift Bd. 57. Heft 5) zu entkräften:

1) In seiner früheren Arbeit (diese Zeitschrift Bd. 53. Heft 3) stehe nirgends, er habe zuerst das gleichzeitige Vorkommen von Typhus- und Paratyphusbacillen beobachtet.

2) Ebenda sei keine Rede davon, daß ihm der erste Nachweis von Paratyphuskeimen im Wasser gelungen sei.

3) Hingegen habe er als erster festgestellt, daß Paratyphuskeime vorübergehend im Blut Gesunder sich vorfinden.

Es sei mir gestattet, diese Argumente näher zu beleuchten.

ad 1) G. Mayer hat wohl seine eigene Arbeit nicht bis zu Ende gelesen. Denn hier auf der vorletzten Seite steht die leicht mißzuverstehende Stelle, daß er das gleichzeitige Vorkommen von Typhus- und Paratyphusbacillen „vor Conradis Veröffentlichung“ dargetan habe.

ad 2) Es ist Brauch, durch Fettdruck nur das Wesentlichste hervorzuheben. Wenn also ein Autor Zeitangaben und gar Monats- sowie Jahreszahlen fettdrucken läßt, so dürfte es ihm auf die Betonung der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeit ankommen. Nun stand in der ersten Arbeit von G. Mayer über Befunde von Paratyphusbacillen im Wasser wörtlich[1]) folgendes: „Aber schon im Jahre **1904 hatten wir im Juni einen solchen Befund.** Es handelte sich um eine **Quelle** . . . . . .“ Jetzt aber, nachdem ich inzwischen auf meine frühere Feststellung hingewiesen hatte, interpretiert G. Mayer obige Stelle dahin, der Nachdruck liege deutlich auf „Quelle“, nicht auf der Zeitangabe, ein Prioritätsanspruch läge ihm fern.

ad 3) Januar 1907 hatte ich beobachtet, daß Paratyphuskeime im Blut Gesunder vorkommen. April 1907 bestätigte G. Mayer meine Beobachtung. Trotz dieser Sachlage hält G. Mayer an der Priorität fest und erklärt, er habe bei der 1907 in Saarbrücken abgehaltenen Leiterkonferenz seine Befunde mitgeteilt, ich aber hätte hierzu geschwiegen. Nach dem im Druck vorliegenden Protokoll jener Sitzung vom 24. Juni 1907 habe ich damals auf die diesbezüglichen Mitteilungen von Herrn Stabsarzt Mayer umgehend erwidert (p. 8 des amtlichen Protokolls), daß mir „schon früher der Nachweis von Paratyphusbacillen im Blute Gesunder gelungen sei“. Die entgegenstehende Behauptung von Georg Mayer widerspricht somit den Tatsachen.

Frankfurt a. M., 4. Februar 1911.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Züchtungs- und Isolierungstechnik der anaëroben Mikroorganismen.

Von Dr. **Federico de Gasperi** und Dr. **Emil Savini.**

Mit 1 Figur.

Heute wissen wir, daß die anaëroben Mikroorganismen, ebenso wie die weit besser bekannten aëroben, sich überall ihres Daseins freuen, und zwar findet man dieselben im Boden, Dünger, Abflußwasser, Darminhalt usw. Ihre große Rolle und Bedeutung nicht nur in der freien Natur, sondern auch für unsere Erhaltung und Bestehen — was uns Menschen wohl am nächsten liegt — für die Pathologie also, haben ihr Studium und nähere Kenntnis unentbehrlich gemacht. Speziell die ungemein wichtigen Fäulnisprozesse, welche sich unter unseren Augen in der Natur spontan und fortwährend abspielen, haben schon die Aufmerksamkeit der Forscher aller Zeiten auf sie gelenkt. Wir möchten hier die verschiedenen Anschauungen über die Natur solcher Prozesse, sowie die Diskussion, welche in der neueren Zeit unter dem Einflusse der Pasteurschen Vorstellungen und Arbeiten ausgebrochen ist, ob nämlich diese Fäulnisprozesse den anaëroben oder aber den aëroben Mikroorganismen zu verdanken sind, ganz beiseite lassen, um uns mit den neuesten Ideen beschäftigen zu können.

Wenn ein tierisches oder pflanzliches Wesen sein Leben einbüßt, was wir gewöhnlich als Tod bezeichnen, so muß das nicht in absolutem Sinne genommen werden, denn es bedeutet nur die Ausschaltung von größeren und komplizierteren physiologischen Funktionen, welche das Leben des

1) In seiner kürzlichen Veröffentlichung reproduziert G. Mayer die in seiner ersten Arbeit fettgedruckten Worte nunmehr durch gewöhnliche Druckschrift! Infolge dieser Aenderung kommt die zeitliche Betonung nicht mehr zum Ausdruck.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gesamten betreffenden Wesens als solches charakterisieren; der Tod ist noch nicht vollständig, da es darin noch Gewebe und Zellen gibt, welche ihr eigenes Leben noch einige Zeit fortführen, wenn auch nur in reduzierterem Maße. Erst dann, wenn die Fäulnis eintritt — und diese wird eben durch die anaëroben Mikroorganismen bedingt — beginnt die wirkliche Zerstörung der Gewebe im organischen Sinne, d. h. die höchst komplizierten chemischen Verbindungen, welche für den Bau der Zellen und der Gewebe nötig sind, werden angegriffen, gespalten, und daraus entsteht eine ganze Reihe von Abbauprodukten, wodurch die komplizierten organischen Substanzen wieder zur ursprünglichen Einfachheit gebracht werden (Bildung von Gasen und Mineralverbindungen).

Um eine solche umgestaltende Wirkung zu entfalten, müssen die Anaëroben spezielle Eigenschaften besitzen, und in der Tat stellen sie vor allem kräftige chemische Energiequellen dar, welche einen raschen, vielseitigen und intensiven Stoffwechsel ermöglichen. Diese Energieträger bieten sogar ein sehr schönes und interessantes Beispiel dafür, wie die Natur mit relativ einfachen Mitteln außerordentlich große Wirkungen entfalten kann, wie sie ihre chemische Energie in konzentrierter Form so ungemein kleinen Lebewesen vertraut, um dieselbe jederzeit zur Verfügung zu haben, und schließlich, wie diese Energie am zweckmäßigsten in der Form von Fermenten benutzt wird, welche tatsächlich überhaupt die stärksten Reagentien, die wir kennen, darstellen. Es sei hier noch erwähnt, daß auch der ganze Grundstoffwechsel aller lebendigen Tiere und Pflanzen ein fermentativer und den eigenen Zellen zuzuschreiben ist, so daß mit Hilfe derselben Mittel, welche durch ihren Umsatz während des Lebens das Fortbestehen der Wesen möglich machen, auch die postmortale Zerstörung verursacht wird; die Mittel sind die gleichen geblieben, nur der Energieträger ist ein anderer geworden. Die Wissenschaft hat festgestellt, daß die Leichenverwesung, wenigstens zum größten Teile, den eigenen, aus dem Darminhalt austretenden Bakterien zu verdanken ist, daß dabei zwei Zeitabschnitte zu unterscheiden sind, und zwar ein Anfangsstadium, wo vermittels gemischter Fermentwirkung gleichzeitig die Kohlehydrate und die Eiweißstoffe angegriffen werden, und ein zweites weiteres Stadium, wo anderen Bakterien dadurch das Gedeihen ermöglicht worden ist und wo, durch die Wirkung diesmal nur proteolytischer Fermente, die Eiweißstoffe und ihre Abbauprodukte weiter und vollständig umgewandelt werden. Während der beiden Perioden gebührt den Anaëroben der Hauptanteil.

In der freien Natur ist die Zerstörung des organischen Stoffes zum größten Teile den Bakterien anvertraut, so daß ebenso gut die tierischen wie die pflanzlichen Reste, hauptsächlich die Cellulose, von ihnen angegriffen werden. Fast ähnliche Fäulnisprozesse spielen sich aber auch innerhalb des lebendigen, anscheinend ganz gesunden Organismus ab, natürlich nicht im demselben Maße, wie im toten Zustande, jedoch immerhin in beträchtlichem Umfange, entsprechend ungefähr dem oben genannten Anfangsstadium. Die zahlreichen, mit der Nahrung eingeführten anaëroben Mikroorganismen[1]) entfalten im Darme, hauptsächlich im Dickdarm, wo besonders die Bedingungen für ihr Gedeihen günstig sind, ihre Wirkungen, welche tatsächlich zuweilen eine wichtige Rolle spielen können. So finden wir im Darme des Neugeborenen schon kurze Zeit nach der Geburt und während des ersten Lebensjahres, daß unter

1) Die Faeces enthalten viel mehr anaërobe als aërobe Bakterien.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

anderen vorzugsweise ein Anaërobe (Bac. bifidus) die Abbauprodukte des Kaseïns weiter umwandelt; die Anaëroben können zuweilen also wichtige Verdauungswirkungen entfalten. Beim Kinde wie auch beim Erwachsenen spielen sich im Darme während des ganzen Lebens Gärungs- und Fäulnisprozesse ab, ohne daß dabei die Gesundheit anscheinend im mindesten geschädigt wird, was aber durchaus nichts gegen die Annahme, daß derartige Prozesse unvorteilhaft für den betreffenden Organismus sein müssen, beweist. Auf Grund dessen könnte die bekannte Anschauung Metchnikoffs als ganz berechtigt angesehen werden.

Gibt es doch gesunde Menschen, bei denen die Fäulnisprozesse im Darme ein sehr hohes Maß erreichen, während bei anderen dieselben nur ganz mäßig vor sich gehen; es sind physiologisch unzweifelhaft ungleichwertige Individuen.

Wenn wir uns jetzt auf dem pathologischen Gebiete umsehen, so lassen sich daselbst schon zahlreiche Fälle nachweisen, in denen die Anaëroben schuldig sind, und auch die Klinik bietet uns viele interessante Beispiele dafür. Wir wollen uns deshalb nicht mit den Krankheiten, welche unzweifelhaft von Anaëroben hervorgerufen werden und allgemein bekannt sind, wie Tetanus, malignes Oedem usw. beschäftigen, sondern die noch ungenügend geklärten Krankheitsbilder einem eingehenderen Studium unterziehen.

In erster Linie sind hier wohl diejenigen zu erwähnen, wo der pathologische Zustand die Uebertreibung des normalen ist, z. B. Fälle, wo die durch die Anaëroben im Darme für gewöhnlich nur mäßiger hervorgerufenen Fäulnisprozesse aus verschiedenen Ursachen ein sehr hohes Maß erreichen können und dadurch mehr oder weniger schwere Intoxikationserscheinungen auslösen; diese Krankheitsfälle harren jedoch noch des weiteren Studiums.

Es folgt dann das große Kapitel der Eiterungsprozesse, welche sich nach ihren klinischen Zeichen in drei Gruppen einteilen lassen. Wir übergehen die erste Gruppe, wo die Eiterung durch aërobe Bakterien, am häufigsten von Staphylokokken oder Streptokokken, seltener vom Streptococcus lanceolatus oder Typhusbacillus verursacht wird und dadurch der gewöhnliche dickflüssige, milchartige, fast geruchlose, gelblich-weiße Eiter der heißen Abszesse, der Furunkel etc. (Pus bonum et laudabile) erzeugt wird, worin wenigstens $^2/_3$ der Leukocyten gut erhalten und färbbar sind und wo man nur sehr wenigen Bakterien begegnet, und ebenso gut die zweite Gruppe, wo der eigentümliche dünnflüssige, Klümpchen enthaltende, geruchlose Eiter charakteristisch für die sogenannten kalten Abszesse (Tuberkulose, Aktinomykose) ist. Uns interessiert hier vielmehr die letzte Gruppe von speziellen Eiterungen, nämlich diejenige, wo der flüssige, schmutziggraue, schokoladenbraune oder grauschwarze zerstückelte Klümpchen enthaltende Eiter einen eigentümlichen kotartigen Geruch, etwa wie bei den cariösen Zähnen, besitzt (Pus foetidum). Mikroskopisch zeichnet sich ein solcher Eiter einerseits durch das vollkommene Fehlen von Leukocyten, oder wenn sich doch zuweilen sehr wenige solche finden, so sind diese sehr stark beschädigt, entartet, schlecht färbbar, also durch Zellenzerstörung aus und andererseits durch die sehr große Bakterienmenge, darunter überaus zahlreiche grampositive, welche verschiedene Formen besitzen und gewöhnlich vergesellschaftet sind, also eine Mischinfektion darstellen, verschiedene Kokken, Bacillen und sogar Spirillen, häufig mit Proteus oder Coli-Bacillen vermischt, aber in relativ kleiner Menge.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Als man nun im Anfang von einem solchen jauchigen Eiter, welcher im mikroskopischen Präparate so ungemein zahlreiche und verschiedenartige Bakteriengestalten aufwies, Kulturen anlegte, und zwar wie für die aëroben Bakterien nach dem gewöhnlichen Plattenverfahren, so fanden sich doch nur verhältnismäßig außerordentlich wenige oder sogar keine Kolonieen, was zu der Annahme berechtigte, daß die im mikroskopischen Präparate so zahlreich enthaltenen Bakterien bereits abgestorben seien, was aber in keinem Zusammenhang mit ihrer guten Färbbarkeit, mit der klinischen Beobachtung, daß die betreffende Erkrankung sich eher auf der Höhe der Evolution befand und hauptsächlich den positiven experimentellen Resultaten stand, denn die Einimpfungen bei Tieren zeigten, daß die betreffenden Bakterien sogar virulent waren.

Von einem anderen Standpunkt aus begannen dieselben betrachtet zu werden, nachdem Pasteur seine Studien über den Bacillus des malignen Oedems, welcher schon allein imstande ist, eine wirkliche Fäulnis zu erzeugen, vollendet hatte. Man glaubte, daß vielleicht diese für abgestorben gehaltenen Bakterien des faulen Eiters Anaëroben sein könnten und das Mißlingen der Kulturversuche nur den unzweckmäßigen Lebensbedingungen in den gewöhnlichen Kulturverfahren zu suchen sei. Schon im Jahre 1898 wurde von Veillon und seinen Mitarbeitern bewiesen, daß es möglich ist, durch geeignete Kulturmethoden das konstante Vorhandensein von fast ausschließlich anaëroben Mikroorganismen bei allen jauchigen Eiterungsprozessen zu beweisen und daß dieselben durch bestimmte anaërobe Mikroorganismenarten bedingt sind. Seitdem wurden bei den jauchigen Eiterungen zahlreiche anaërobe Mikroorganismen (Kokken, Bacillen und Spirillen) gefunden, von denen bis jetzt schon etwa 20—30 Arten bekannt sind (Micrococcus foetidus, Staphylococcus parvulus, Bacillus serpens, Bac. fragilis, Bac. fusiformis, Bac. furcosus, Bac. ramosus, Bac. perfringens, Bac. funduliformis, Bac. nebulosus etc.), verschiedene Coccobacillen und sogar eine streng anaërobe Actinomyces-Art.

Früher wurde angenommen, daß der spezifisch kotartige Geruch des jauchigen Eiters einfach auf die Nachbarschaft des Verdauungskanales zurückzuführen wäre, was aber eine ungenügende Erklärung war, denn es kommen solche Eiterungen auch im Gehirn (Hirnabszeß) vor, welche davon also sehr entfernt sind. Was wir heute über die anaëroben Mikroorganismen wissen, gibt uns eine befriedigende Erklärung darüber, denn überall, wo jauchige Eiterungen vorkommen, sind auch die Anaëroben zu finden.

Solche jauchige, auch putride, fötide oder faule Eiterungsprozesse genannt, können im Innern aller Gewebe und Organe des Körpers auftreten, und zwar ebensogut in der Nachbarschaft der Körperhöhlen, als auch in tief gelegenen Geweben und Organen des Körpers; meistenteils dringen die Bakterien durch die Wand der benachbarten lufthaltigen Körperhöhle ein. So können wir diejenigen, welche in der Nachbarschaft der Schädelhöhlen auftreten, z. B. in der Nähe des Ohrkanals (Otitis media, Mastoiditis, Phlebitis, Meningitis, Meningeal- und Hirnabszeß), dann manche Phlegmone der Augenhöhle, welche ausschließlich durch die Anaëroben verursacht werden, brandige Vereiterung des Tränenröhrchens und seiner Umgebung, Sinusitiden (Infektion durch die Nasenhöhle), putride abgekapselte Pleuritis, dann in der Nähe des Verdauungskanales: Osteoperiostitis, Caries und Pulpitis der Zähne, Adenophlegmone des Rachens, phlegmonöse Perigastritis, Appendicitis, Peritonitis, periintestinale Phleg-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mone, dann weiter in der Nähe des Urogenitalapparates: Schwere gangränöse Harnabszesse infolge von Harninfiltration in das periurethrale und Dammgewebe mit sekundärer plötzlicher Dammgangrän (es ist nicht der Harn, wie man es früher glaubte, die Ursache davon, sondern die durch die Urethra eingedrungenen Anaëroben); Cystitis, Pyelitis, perinephritische Phlegmone, zuerst gonorrhoische, dann sekundär mit Anaëroben infizierte, sehr schmerzhafte, fötide, brandige Bartholinitis, perimetritische Eiterungen, Puerperalsepsis nach Abort, welche ausschließlich von Bac. perfringens verursacht werden und tödlich verlaufen kann, wobei man ihn in allen Organen massenhaft findet, Salpingitis usw. anführen. Die betreffenden Eitererreger bei allen diesen krankhaften Prozessen sind gewöhnlich in den meisten Fällen vergesellschaftete Anaërobenarten, nur selten eine einzige Art oder auch Aëroben dazwischen; wir haben es also für gewöhnlich mit einer anaëroben Mischinfektion zu tun.

Dann haben wir aus dem großen Kapitel der nekrobiotischen und gangränösen Prozesse insbesondere diejenigen, welche durch Mikroorganismen[1]) bewirkt werden, zu erwähnen. Wir möchten hier vorausschicken, daß die durch Bakterien bedingte Nekrose oder Nekrobiose scharf von der Gangrän zu trennen ist, denn der erstere Prozeß beruht einfach auf dem Aufheben der Blutzufuhr irgendeines Gewebes, dem wegen des Mangels an Ernährung das Zugrundegehen der anatomischen Elemente nachfolgt, das Gewebe erweicht, ohne daß dabei Fäulnis eintritt. Als Beispiel hierfür haben wir die oberflächliche Schleimhautnekrose bei Diphtherie, die man früher als Koagulationsnekrose bezeichnete, welche von den Toxinen des Diphtheriebacillus selbst erzeugt wird, oder die experimentell durch Einspritzung von Staphylokokken in die Blutbahn beim Kaninchen hervorgerufenen Nierenabszesse, welche als Type der bakteriellen Nekrose anzusehen ist, wobei die Nekrose des Herdes und seiner Umgebung direkt den Bakterien zuzuschreiben ist, Nekrose ohne Fäulnis. Der gangränöse Prozeß dagegen schließt in sich Gewebsnekrose und Fäulnis, und ist immer durch anaërobe Mikroorganismen bedingt, welche allein imstande sind, beides gleichzeitig zu bewirken, wie z. B. in den Fällen von gangränösen Anginen, Lungengangrän usw., oder wenn im oben angeführten experimentellen Versuch dem Kaninchen anstatt Staphylokokken in derselben Weise ein Anaërobe eingespritzt worden wäre, dann werden die Nierenabszesse putrid; es tritt Schmelzung der betreffenden Herde unter Produktion stark übelriechender Stoffwechselprodukte, Gangrän also, ein. Die Gangrän stellt also einen Fäulnisprozeß im lebendigen Organismus dar, aber an einer Stelle, wo eine Nekrose schon da ist. Wichtig ist es noch, zu bemerken, daß im allgemeinen niemals ein Bakterium Sporen im lebendigen Organismus zu bilden imstande ist; wenn es so etwas tut, dann ist der betreffende Teil physiologisch schon tot.

1) Hier lassen wir diejenige Nekrose ganz beiseite, welche, wie z. B. durch einen aseptischen Embolus einen Infarkt im Gehirn, in der Lunge oder Leber etc. einfach mechanisch durch Aufheben der Blutzufuhr hervorruft, wobei die einfache Zellnekrose durch die Inanition bedingt ist. Es kann aber ganz gut vorkommen, daß eine im Anfang aseptische Nekrose sich sekundär mit Bakterien infiziert, z. B. ein Lungenherd; wenn es sich in einem solchen Falle um Anaëroben handelt, dann kommt jauchige Schmelzung unter Bildung übelriechender Produkte hinzu (Lungengangrän); hier hat man es aber mit Fäulnis eines vorher aus anderen Ursachen abgestorbenen Gewebes zu tun. Die aseptische Nekrose bleibt also einfache Nekrose und wird nicht zur Gangrän, solange keine Anaëroben auch da sind, denn die Gangrän ist nur da anzutreffen, wo es auch gleichzeitig Anaëroben gibt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

So gehört es nicht zu den Seltenheiten, daß die Appendicitis durch Gangrän als Begleiterscheinung kompliziert wird, was ebenfalls den von irgendeinem Fremdkörper oder sogar einer harten Kotmasse, wie dies bei den Fällen von chronischer Verstopfung vorkommt, eingeführten Anaëroben zu verdanken ist. Die allgemeinen Erscheinungen sind dann einerseits der örtlichen Infektion, andererseits der allgemeinen Vergiftung durch toxische Resorptionsprodukte zuzuschreiben. Die kulturelle Untersuchung eines solchen gangränösen Wurmfortsatzes zeigt uns, daß die Anaëroben ungemein zahlreicher als die Aëroben anzutreffen sind; während sich z. B. vom Coli-Bacillus und vom Streptococcus nur einige vereinzelte Kolonieen nachweisen lassen, findet man die Anaërobenkolonieen zu Hunderten. Die pathologisch-anatomische Untersuchung auf Schnitten bestätigt uns, daß in der Invasionszone die Anaëroben vorhanden sind. In anderen Fällen sind ausschließlich Anaëroben zu konstatieren; dieselben können bisweilen in die Blutbahn eindringen und die Ursache von metastatischen embolischen Herden, sekundären Abszessen, Periostitis etc., alles mit Anaëroben, sein.

Wenn aber die Appendicitiden ganz allgemein betrachtet werden, dann ist zu bemerken, daß dieselben im allgemeinen einer Mischinfektion unterlegen sind; die daran teilnehmenden Bakterien können aber äußerst verschieden sein und dieselben Bakterien sogar ganz verschieden in den einzelnen Fällen wirken, wodurch das klinische Bild auch stark verändert wird. So hat man verschiedene Appendicitisepidemieen nach Anginen, Scharlach, Influenza etc. beobachtet, wo die Wurmfortsatzerkrankung einmal einfach entzündlich, einmal dagegen gangränös verlief; im letzteren Falle ist die Krankheit schwer, denn es kommt schnell zur Perforation des Wurmfortsatzes. Das klinische Bild in solchen Fällen ist ziemlich charakteristisch: Der Facies spiegelt einen schweren toxischen Infekt wieder (Facies putridus), es herrscht ein ausgeprägter typhöser Zustand, mit mäßiger, sogar niedriger Temperaturerhöhung und starker Pulsbeschleunigung, wobei eine sehr ernste Prognose zu stellen ist. Die große Pulsfrequenz bei niedriger Temperatur ist sogar charakteristisch und genügend, um die Anaërobeninfektion uns anzuzeigen. Häufig kommt es bei Otitis und insbesondere bei Mastoiditis zu Phlebitis, welche speziell bei Kindern häufig zur Bildung embolischer Lungengangränherde Anlaß geben, und da der Embolus Anaëroben mitgeschleppt hat, verläuft die Lungenembolie als ein gangränöser Prozeß, es entsteht dann eine jauchige Lungenkaverne. Es gibt dann noch die zerstreuten Gangränherde der Haut bei Kindern, die sekundär mit Anaëroben infizierten Windpockenpusteln, wobei brandige Herde der Haut entstehen; man kann auf der Haut alle Uebergänge von den normalen Pusteln der Windpocken bis zur schwersten Gangrän finden, selten, aber es ist möglich, kann durch einen solchen Prozeß ein ganzes Lid zerstört werden, die Lungengangrän etc., wo eine aërob-anaërobe Mischinfektion zu konstatieren ist, Gasphlegmone des Unterhautgewebes infolge von Trauma oder schmutziger Einspritzung usw.

Die klinische sowohl als auch die experimentelle bakteriologische Erfahrung lehrt, daß im allgemeinen die Mehrzahl der in der Natur sich findenden anaëroben Mikroorganismen für gewöhnlich avirulent ist, nur muß man sich klar machen, daß die Virulenz eines gegebenen Bakteriums scharf von seiner Giftwirkung bezw. seinem Giftbildungsvermögen zu trennen ist; diese zwei Eigenschaften eines Bakteriums laufen fast niemals parallel, sondern entweder sind sie getrennt oder sogar ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gesellschaftet, das erklärt, warum die Anaëroben sich als unschädlich erweisen, wenn sie allein, und schädlich, wenn sie von ihren Toxinen begleitet sind. Es sollen also spezielle Bedingungen erfüllt werden, damit sie virulent werden; in erster Linie ist hier die Symbiose zu nennen. Deswegen ist ihre Tierpathogenität sehr veränderlich, ein gegebener Anaërobe haftet oder er haftet nicht; wenn er haftet, dann kann man Abszeß, Phlegmone, Gangrän oder Sepsis erzielen; das Endresultat hängt oft von der Gewebeart ab, es entsteht eine jauchige Eiterung oder ein gangränöser Prozeß, je nachdem sich das betreffende Gewebe vollständig verflüssigen läßt oder nicht. Zuweilen ist er nicht pathogen und wird vom Organismus zerstört, andere Male wieder ist der Anaërobe der Stärkere; wenn dies dann der Fall ist und der Anaërobe allein pathogene Eigenschaften aufweist, dann ruft er entweder 1) eine mehr oder weniger schwere allgemeine Giftwirkung auf den Organismus durch die von ihm an Ort und Stelle gebildeten Toxine und andere Stoffwechselprodukte hervor, ohne daß dabei eine deutliche Vermehrung des betreffenden Bakteriums stattfindet, oder 2) eine Sepsis mit zahlreichen, im ganzen Körper ausgebreiteten Bakterien, oder endlich 3) erfährt der Anaërobe eine starke, aber nur lokale Vermehrung, wodurch ein Abszeß oder eine Phlegmone entsteht. Alles hängt für die meisten Anaëroben von den ihnen dargebotenen Begleitbakterien, also von der Art der Mischinfektion ab. Hieraus resultiert bei den meisten Krankheitsfällen, welche durch Anaëroben bedingt sind, daß verschiedene Anaëroben oder Anaëroben und Aëroben im Krankheitsherd vorhanden sind; oftmals beginnt ein Aërobe die Erkrankung und ermöglicht die Wirkung der begleitenden Anaëroben. In anderen Fällen kann das Vorhandensein eines Fremdkörpers in den Geweben die Virulenz der Anaëroben steigern, wie z. B. irgendein Fremdkörper oder eine harte Kotmasse bei chronischer Verstopfung, ein Anaëroben mitschleppender Darmwurm (Trichocephalus etc.) in der Lage sind, eine Appendicitis durch Einklemmung im Inneren des Wurmfortsatzes zu verursachen.

* * *

Die große Bedeutung der anaëroben Mikroorganismen in der Natur und in der Pathologie hat also zum näheren Studium derselben zwingen müssen, und da die gewöhnlichen, für die Aëroben üblichen Züchtungs- und Isolierungsmethoden sich dazu als ganz unausreichend herausstellten, so wurde von verschiedenen Autoren zu diesem Zwecke eine Anzahl neuer, mehr oder weniger komplizierter Methoden ersonnen. Jedoch die technische Schwierigkeit und die Unzulänglichkeit der bei Anwendung älterer Methoden erhaltenen Resultate haben zahlreiche Forscher vom Anaërobenstudium zurückgehalten, oder entmutigt, so daß es vernachlässigt wurde, und es wird dies noch heute, da dasselbe immer mit recht komplizierten, mühsamen und oft kostspieligen Laboratoriumseinrichtungen verknüpft ist; auch neigen wir der Annahme zu, daß wohl hauptsächlich die Unbequemlichkeit neben den sehr mäßigen und mühsam erhaltenen Resultaten die Hauptursache des Studiummangels der Anaëroben abgeben.

Es ist vor allem sehr wichtig, eine gleichzeitig genaue, sichere und einwandfreie, aber doch einfache Methode für die Trennung und Züchtung der Anaëroben zu besitzen, weil hier einerseits häufig sehr zarte Bakterien in Frage kommen und andererseits wegen der großen Bakterienzahl in dem zu untersuchenden Material immer zahlreiche Trennungen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auszuführen nötig sind. Aus diesen Gründen überheben wir uns der Mühe, die Beschreibung und die Kritik der verschiedenen bis heute angegebenen Kulturmethoden für die Anaëroben in ihrer geschichtlichen Entwickelung anzuführen, sondern möchten an dieser Stelle nur diejenigen erwähnen, welche unserer Meinung nach die am sichersten zum gewünschten Ziele führenden und gleichzeitig die einfachsten und am leichtesten anwendbaren Methoden sind, diejenigen also, die wir gewöhnlich bei unseren alltäglichen Untersuchungen der anaëroben Mikroorganismen mit stetem Erfolg benutzt haben.

Als diejenige Methode, die uns konstanterweise die besten Resultate geliefert hat, ist die von Veillon angegebene zu betrachten; sie ist durchaus einfach und praktisch, erfordert wenig Zeit, da sie rasch und leicht ausführbar ist, führt am sichersten zum Ziele, eignet sich ausgezeichnet zur allgemeinen Anwendbarkeit und stellt tatsächlich eine kostbare Methode dar, da sie mit sehr einfachen Mitteln das gleichzeitige Trennen und Züchten der streng anaëroben, fakultativen und obligat aëroben Mikroorganismen gestattet. Als Beweis dafür können wir hier die Tatsache erwähnen, daß diese Methode sich als sehr fruchtbar herausstellte und mit ihrer Hilfe zahlreiche neue Bakterien entdeckt worden sind und fortwährend noch mehr entdeckt werden, so daß man dadurch eine neue, reichliche und interessante mikroskopische Flora kennen gelernt hat.

Diese Methode war schon bei Liborius geschätzt, der sie zum ersten Male im Jahre 1886 angewendet hatte, jedoch hat sie bei ihm eine nur sehr beschränkte Anwendung erfahren. Beim Anlegen seiner Kulturen verfuhr Liborius in der Weise, daß er das auszusäende Material in Röhrchen mit Zuckeragar oder -gelatine in hoher Schicht mittels einer Platinnadel oder Pipette, als das Nährsubstrat noch flüssig war, verdünnte; er bezweckte dadurch, die Sauerstoffeinwirkung auf die Entwickelung der Bakterien zu studieren. Nach einiger Zeit schnitt Liborius seine Röhrchen ab und vertrieb die Agar- oder Gelatinesäule in eine sterile Petri-Schale, machte davon Schnitte mit einem sterilen Messer, hat aber niemals dieselben zum Trennen der verschiedenen darin beobachteten Bakterienarten benutzt.

Veillon gebührt das Verdienst, diese Methode zum Zwecke der geläufigen Isolierung und Kultivierung der verschiedenen Bakterienarten aus Bakteriengemischen angewendet zu haben, ohne dabei die Kulturröhrchen zertrümmern zu müssen, so daß den in ihrem Wachstum zurückgebliebenen Bakterienarten eine nachträgliche Entwickelung ermöglicht bleibt. Dank dieser Vervollkommnung wurde die Isolierung und Züchtung der Anaëroben fast ebenso einfach und praktisch, wie diejenige der Aëroben, und es ist dadurch eine Methode geschaffen worden, welche nicht nur die genauesten Ansprüche des Laboratoriums zu befriedigen imstande ist, sondern sie ist auch von unschätzbarem Werte für den klinischen Betrieb geworden, wo sie sich wegen ihrer Einfachheit und Zuverlässigkeit der täglichen Anwendung erfreut.

Dieser Methode gebührt in der Tat das Verdienst, eine Eroberung auf dem Gebiete des alltäglichen klinischen Betriebes zu sein, welche allen Anforderungen gerecht wird, die in bezug auf Zuverlässigkeit und Einfachheit in der Handhabung an sie gestellt werden. Denn wie fast alles, was von einiger Wichtigkeit auf dem Gebiete der Medizin geschaffen worden ist, der klinischen Begeisterung sein Dasein verdankt, so ist dies in hohem Maße bei der Veillonschen Methode der Fall.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Muß doch alles, was aus der Klinik stammt, immer wieder in dieselbe zurückkehren.

Wenn auch Veillon nicht der direkte Schöpfer dieser nach ihm benannten Methode ist, so hat er sie doch in so glücklicher Weise vervollkommnet, daß ihr sein Name mit aller Gerechtigkeit beigelegt werden kann.

Bevor wir uns einer möglichst präzisen und kurzen Beschreibung der Veillonschen Methode zuwenden, möchten wir dem Leser das Nachschlagen der grundlegenden Arbeiten von Veillon, Veillon und Zuber, Rist, Hallé, Guillemot, Cottet und Tissier empfehlen, wo die Technik und zahlreiche andere Fragen eine meisterhafte Behandlung erfahren haben. Wir können uns daher wohl ein näheres Eingehen auf die angezogenen Arbeiten ersparen und gleich mit der Technik beginnen.

Die erste unerläßliche Vorbedingung ist einen sehr klaren Nährboden anzuwenden, damit die Kolonieen in allen ihren Einzelheiten genau angesehen werden können. Es wird fast ausschließlich nur Agar benutzt, und zwar Traubenzuckeragar in größeren Reagenzgläsern als gewöhnlich und in hoher Schicht.

Zur Bereitung dieses ganz durchsichtigen Agars wird nach der letzten Vorschrift von Veillon in folgender Weise verfahren: 500 g gehacktes Fleisch weicht in 1 l Leitungswasser während mehrerer Tage auf, bis Fäulnis eintritt, wodurch ein besseres Nährmedium für das gute Gedeihen der Anaëroben erhalten werden kann, weil durch die Fäulnis reduzierende Substanzen entstehen. Dem auf Tarlatan filtrierten und zu 1 l wieder gefüllten Fleischwasser werden 10 g Pepton, 5 g NaCl und 8—12 g Agar zugesetzt und nachher $^1/_2$ Stunde bei 120° C erhitzt.

Die relativ kleine zuzusetzende Agarmenge genügt vollständig; denn da dieser Nährboden nur in hoher Schicht angewendet wird, ist schon eine schwächere Konsistenz zulässig, auch gewinnt der Agar auf diese Weise sehr an Durchsichtigkeit.

Vor dem Kochen wird die Reaktion der Agarmasse kontrolliert. Gewöhnlich ist dieselbe schon alkalisch genug, weil sich durch die eingetretene Fäulnis viel NH_3 gebildet hat; wenn dies aber nicht der Fall ist, dann muß sofort mit Soda- oder Natronlaugelösung deutlich alkalisiert werden. Dem auf etwa 55° C abgekühlten Agar wird sodann das Weiße von einem oder zwei Hühnereiern und 7—15 g in wenig Wasser schon gelöster Traubenzucker zugesetzt, das Gemisch wird gut geschüttelt und nachher $^1/_2$ Stunde im Autoklaven bei 120° gekocht.

Beim Gerinnen wird das Eiweiß alle Niederschläge mit sich reißen und die nachträgliche Filtration sehr erleichtern. Der Traubenzucker wird als reduzierende Substanz angewandt, und es ist wichtig, daß er erst ganz zuletzt zugesetzt wird, denn bei längerem Kochen schwärzt sich der Nährboden wegen der Karamelisierung des Traubenzuckers und die Durchsichtigkeit des Nährbodens läßt dann nach.

Nach dem Kochen wird der Agar sofort durch Chardinsches Papier filtriert, sodann in großen Reagenzgläsern in hoher Schicht (etwa 10—12 ccm Höhe) verteilt und nun an drei hintereinanderfolgenden Tagen je 15 Minuten durch Kochen im Dampfstrom bei 100° C sterilisiert. Es ist gut, den Agar in hoher Schicht bei 100° C zu sterilisieren, da bei höheren Temperaturen der Wattepfropf vom Agar benetzt werden kann. Die Kulturröhrchen werden dann aufbewahrt.

Es ist ratsam, in jedem Falle vor dem Beimpfen ein mikroskopisches Präparat vom auszusäenden Material zu machen, dasselbe wird zur Kontrolle und Uebereinstimmung der kulturellen mit den mikroskopischen Resultaten sorgfältig aufbewahrt; wenn in demselben zahlreiche Bakterien vorhanden sind, wird wenig Material besät, im entgegengesetzten Falle mehr.

Unmittelbar vor dem Gebrauch wird etwa ein Dutzend Kulturröhrchen in einen mit Wasser zum Sieden gebrachten Blechkasten gestellt, bis der Agar flüssig wird, worauf die Röhrchen in einen anderen mit warmem Wasser (39—40° C) gefüllten Blechkasten kommen (die Temperatur wird leicht nach einiger Erfahrung einfach mit der Hand geschätzt), bis der Agar selbst dieselbe Temperatur erreicht hat, wobei er jedoch flüssig bleibt.

Beim Beimpfen bedient man sich einer lang ausgezogenen, an der Spitze geschlossenen Pipette, die man gut in der Bunsenflamme sterilisiert. Die Spitze der Pipette wird hierauf in das auszusäende Material eingetaucht und eine Spur davon entnommen, dieses dann in ein erstes Röhrchen sehr gut verteilt und direkt, also ohne neues Material zu entnehmen, in ein zweites, dann in ein drittes usw., im ganzen in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

etwa 10—12—15 Röhrchen nacheinander weiter besät. Die Röhrchen werden zum Erstarren in kaltem Wasser abgekühlt und schließlich in den Thermostaten bei 37° C gebracht.

Im letzten Röhrchen hat man nach 2—3 oder noch mehreren Tagen immer nur vereinzelte Kolonieen genau wie auf einer Platte. Man kann dann sehr bequem diese Kolonieen mit bloßem Auge, mit einer Lupe oder sogar unter dem Mikroskop bei einer sehr schwachen Vergrößerung (Objektiv 0) direkt studieren und ihre Charaktere bestimmen, ob dieselben weiß, linsenförmig, gefranst etc. sind. Mit Hilfe einer lang ausgezogenen Pipette, die in der Nähe der Spitze noch feiner ausgezogen wird, die Spitze abbricht, in der Flamme sterilisiert und an einem Kautschukröhrchen anpaßt (der Guillemotsche Ansatz), kann man dann die isoliert liegenden Kolonieen durch Aufsaugen fischen und einen Teil davon in ein neues vorbereitetes, flüssig gemachtes Kulturröhrchen zum Erzielen einer Reinkultur sofort impfen, während von den übrig gebliebenen ein mikroskopisches Präparat hergestellt wird.

Das ist die ganze höchst einfache Technik der klassischen Methode von Veillon; man braucht dazu weder ein Vakuum, noch Wasserstoffeinleitung, noch andere umständliche Winke. Es ist eine bequeme Methode, denn man kann 1—2—3 oder mehrere uns interessierende Kolonieen auffinden, ohne daß die Kultur dadurch verloren geht, sondern dieselbe wird weiter im Thermostaten stehen gelassen, bis auch schwieriger gedeihende Bakterien sich entwickeln können.

* * *

Für unsere Studien sind wir in etwas davon abweichender Weise verfahren.

Der sehr durchsichtige Agar, ebenso durchsichtig wie die Gelatine, wird folgendermaßen bereitet: 500 g fettfreies, feingehacktes Rindfleisch wird mit 1 l Leitungswasser gut umgerührt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Sodann wird die Fleischbrühe 15 Minuten auf freier Flamme gekocht, durch doppeltes Chardin-Filtrierpapier filtriert, der Rückstand gepreßt, sodann 12 g fein geschnittener Agar, 10 g Wittesches Pepton und 5 g NaCl zugesetzt und dann auf freier Flamme oder im Autoklaven bei 110° C gekocht, bis der Agar sich vollkommen gelöst hat (20—30 Minuten im Autoklaven). Wenn die Temperatur der Agarmasse auf etwa 55° C gesunken ist, werden Trauben- und Milchzucker, āā 4 g und ein in wenig Wasser gut umgerührtes Hühnereiweiß zugesetzt, sodann mit Sodalösung alkalisiert, bis die Reaktion deutlich alkalisch wird, und schließlich im Autoklaven bei 120° C während 20 Minuten erhitzt. Beim Herausnehmen wird der Agar sofort auf Chardinsches Filtrierpapier gegossen; es filtriert sehr schnell und sehr klar und es werden sodann damit größere Reagenzgläser als gewöhnlich (20—22 mm Durchmesser auf 20—22 cm Länge) in hoher Schicht etwa zur Hälfte mit Agar (ungefähr auf 10—12 cm Höhe) gefüllt; man verschließt dieselben am besten mit gewöhnlichen, nicht hydrophilen Wattebäuschen und sterilisiert im Autoklaven bei 112—115° C während 15—20 Minuten, sodann werden sie in gerader Stellung zum Erstarren gebracht und aufbewahrt. Man stellt sich immer einen größeren Vorrat davon her. Frische Nährböden sind besser, da sie eine stärkere reduzierende Wirkung besitzen.

Die Bereitung dieses Agars geht sehr schnell vor sich und dauert im ganzen nur wenige Stunden. Der gleichzeitige Trauben- und Milchzuckerzusatz, zwei reduzierende Zuckerarten, scheint uns erfahrungsgemäß vorteilhafter und günstiger wirkend zu sein, denn wir erhielten bessere Resultate damit als mit dem einfachen Traubenzuckerzusatz.

Was nun die Technik der Entnahme des verschiedenen zu untersuchenden Materiales (Faeces, Exsudate, Fäulnismaterialien etc.) betrifft, so haben wir darüber sehr wenig zu sagen, denn die Art und Weise, wie dieselben entnommen werden müssen, muß nach den allgemeinen bak-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

teriologischen Vorschriften, jedenfalls streng aseptisch und sorgfältig, geschehen. Am einfachsten und praktischsten ist es, sich hierzu der Pasteurschen oder Rouxschen Pipette ebensowohl für das Entnehmen wie auch für das Aufbewahren des Materiales zu bedienen, jedenfalls ist es dringend notwendig, die Kulturanlagen möglichst bald nach der Entnahme auszuführen.

Wir betrachten es als eine gesetzmäßige und durchaus notwendige Forderung, daß jedesmal, bevor das Kulturanlegen zum Zwecke der Anaërobenisolierung versucht wird, von dem betreffenden zu beimpfenden Material mikroskopische Präparate angefertigt werden müssen.

Von dem peinlich aseptisch entnommenen Material, wovon wir eine vollständige bakteriologische Untersuchung anstellen möchten, wird also eine kleine Menge mittels einer sterilen Pipette aufgefangen und daraus eine Anzahl (3—4) von Ausstrichpräparaten sorgfältig hergestellt, die man in der Flamme fixiert und verschieden färbt.

Und zwar wird zuerst eine einfache Färbung mit einem gewöhnlichen basischen Anilinfarbstoff gemacht (Karbolthionin, Anilingentianaviolett, Karbolgentianaviolett oder -kristallviolett, Karbolfuchsin mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1 : 10 verdünnt etc.). Es ist nicht nur die Form der darin enthaltenen Bakterienarten, sondern auch die Art und Weise, wie dieselben sich tingieren lassen, sorgfältig zu beachten.

Andere Ausstrichpräparate werden nach Gram, und zwar am besten nach der Gram-Nicolleschen Methode gefärbt und bei einigen derselben wird noch eine Nachfärbung mit der verdünnten Karbolfuchsinlösung vorgenommen. Diese letztere Färbung ist keine andere als die schon von v. Escherich empfohlene, nur anstatt die Nachfärbung mit alkoholischer Fuchsinlösung, wie dieser Verfasser gesagt hat, zu machen, wenden wir die 1 : 10 verdünnte Karbolfuchsinlösung an.

Es scheint dies sehr nützlich zu sein, und wir wenden immer alle diese verschiedenen Färbungen an, weil es Bakterien gibt, und es kommen da die Mehrzahl der Anaëroben in Frage, welche sich unregelmäßig nach Gram färben lassen, so daß es häufig vorkommt, neben gut nach Gram gefärbten Bakteriengestalten andere zu Gesicht zu bekommen, die zwar dieselbe Form und Größe besitzen, sich aber trotzdem nur teilweise färben lassen. Bisweilen kommt es sogar vor, Bakterienarten zu begegnen, welche, obgleich sie sich in Reinkultur finden, neben gut nach Gram gefärbten Individuen andere im ganzen mit Fuchsin tingierte zeigen.

Wir können aber im allgemeinen den Satz gelten lassen, daß fast alle sporentragenden Bacillen, seien sie anaërob oder aërob, grampositiv sind, und daß, wenn überhaupt irgend ein Mikroorganismus grampositiv ist, die unregelmäßig gefärbten und gramnegativen Individuen keine Jugendformen mehr sein können, sondern sie sollen entweder zu alt oder bereits abgestorben sein.

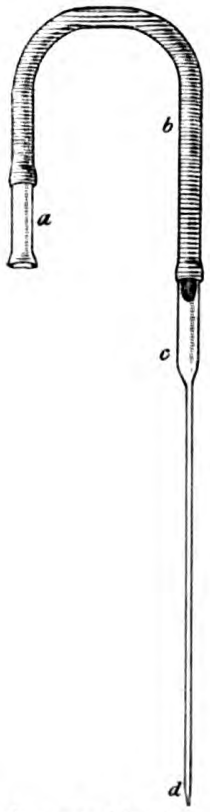
Die genaue Uebersicht der in der besprochenen Weise hergestellten Ausstrichpräparate aus dem zu untersuchenden Material wird uns eben in jedem Falle gestatten, die Menge der Bakterien zu schätzen, um eine gute Isolierung durch Anwendung mehr oder weniger Kulturröhrchen zum Zwecke einer passenden Verdünnung zu erzielen, die vorliegenden Bakterienarten durchzumustern und die überwiegenden zu vermuten, und dadurch wird es möglich, je nach den vermuteten Merkmalen der beobachteten Bakterienarten dieses oder jenes Kulturverfahren unfehlbar

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

anzuwenden, um rascher und in zweckmäßiger Weise zum Ziele zu kommen, wie wir weiter unten sehen werden.

Zum Anlegen von Kulturen, Auffischen von leicht oder schwer zu erreichenden Kolonieen, Anfertigung von Ausstrichpräparaten etc. bedienen wir uns niemals der Platinnadel, denn es läßt sich alles das viel leichter mit der Pasteurschen Pipette ausführen. Deswegen muß man immer auf seinem Arbeitstische einen Vorrat von solchen Pipetten zur Hand haben.

Zu diesem Zwecke werden eine größere Anzahl von Glasröhren, deren Durchmesser etwa 7—8 mm beträgt, zu etwa 20—30 cm langen Stücken zerschnitten, an beiden Enden mit gewöhnlichem, nicht hydrophilem Wattestopfen versehen und im Heißluftsterilisator bis zum Hellbraunwerden der Watte sterilisiert. Man stellt davon jeden Tag für den nötigen Gebrauch eine gewisse Anzahl von Pipetten her, indem man den Mittelteil der Glasröhre in der Gebläseflamme erweicht und außer der Flamme bis zur nötigen Länge langsam auszieht. Der ausgezogene Teil wird in der Mitte getrennt und geschlossen, alles das geschieht in der Flamme und hat man auf diese Weise von jeder Röhre zwei sterile Pipetten erhalten. Die Pipette soll ziemlich lang sein, damit man mit ihrer Spitze bis zum Boden der 20 cm langen Kulturröhrchen bequem gelangen kann. Sehr gut ist es, wenn der ausgezogene Teil gleich weit und möglichst dünnwandig gemacht wird, und der Durchmesser der Oeffnung gleich und nicht zu eng ist, es darf keine Kapillare sein.



Röhre von Guillemot mit Pipette Pasteur.

Nun kann man die Pipette, so wie sie ist, als eine Glasnadel anwenden, also geschlossen, in diesem Falle ersetzt sie sehr gut die Platinnadel, oder aber es ist dieselbe als wirkliche Pipette zu gebrauchen, wenn man ihr die Spitze abbricht. Wenn die Pipette zwar so zu gebrauchen ist, so ist es aber doch viel bequemer, dieselbe an den Guillemotschen Ansatz oder Tubus anzupassen, wodurch die ganze Handhabung äußerst leicht und angenehm wird.

Der Guillemotsche Ansatz oder Tubus besteht aus einem etwa 10 cm langen Glas- oder Beinrohr *a* (siehe nebenstehende Abbildung), welches an einem Ende mit einem etwa 40—50 cm langen Gummi- oder Kautschuktubus *b* versehen ist, während das andere Ende sehr zweckmäßig abgeplattet sein kann, also etwa wie das Pfeifenmundstück, damit es besser im Munde gehalten werden kann.

Unmittelbar vor dem Gebrauch wird eine passende Pipette gewählt und in der Nähe der Spitze in der Bunsenbrennerflamme der ausgezogene Teil vorsichtig erweicht und ausgezogen, bis an dieser Stelle eine fast kapillare Verengerung entsteht, die Spitze wird nun abgebrochen und von der gebliebenen fast kapillaren Spitze, wenn es nötig ist, noch so viel, bis die kapillare Spitze *d* nicht zu lang, aber glatt ist. Die Pipette wird sofort an den Guillemotschen Ansatz angepaßt. Man sterilisiert die Pipette gut, indem dieselbe einige Male durch die Bunsenflamme sorgfältig durchzieht und gleichzeitig durch den im Munde gehaltenen Ansatz hineinbläst, damit die durch-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

strömende Luft durch Abkühlen das Erweichen und Biegen der dünnen Glasspitze verhindert.

Jetzt sind wir ausgerüstet, um alle Impfungen, Ausstrichpräparate etc. machen zu können, denn man kann damit in sehr bequemer Weise das gewünschte Material streng aseptisch und in genügender Menge entnehmen, darin einige Zeit nach Zuschmelzung der Spitze in der Kleinstellerflamme steril aufbewahren, Ausstrichpräparate daraus anfertigen, Tiere damit impfen, sei es subkutan, sei es in eine Vene oder in die Peritonealhöhle, denn die Haut läßt sich damit sehr leicht durchbohren. Wenn nun zwar nicht die ganze bakteriologische Technik mit der Pasteurschen Pipette ausgeführt werden kann, so ist es trotzdem nicht übertrieben, zu sagen, daß ein großer und wichtiger Teil derselben der Pipette wegen eine bewundernswerte Vereinfachung erfährt. Die Pipette ist eben das Mädchen für Alles in der bakteriologischen Technik.

Zuvor wird aber eine Anzahl der vorrätigen Röhrchen mit Traubenzucker-Milchzuckeragar in hoher Schicht in ein Wasserbad gesetzt und daselbst zum Sieden gebracht, damit der Agar verflüssigt und die Luft aus der Agarmasse herausgetrieben wird, was durch $^1/_4$-stündiges oder noch längeres Kochen erreicht wird. Wir wollen dabei bemerken, daß auch nach einem so langen Kochen die Temperatur des Agars für gegewöhnlich etwa 80° C nicht überschreitet, wobei der Agar aber sicher luftfrei wird. Danach werden die Agarröhrchen in ein anderes auf etwa 40—42° C reguliertes Wasserbad übertragen, hier wartet man etwa so lange, bis die Temperatur der Agarmasse auch auf dasselbe Niveau sinkt, und jetzt können die Impfungen mit dem auszusäenden Material vorgenommen werden.

Mittels der sterilisierten, am Guillemotschen Ansatz angepaßten und fast kapillar an der Spitze ausgezogenen Pipette, wie oben beschrieben wurde, wird etwas vom zu untersuchenden Material genommen und zuerst in einem Bouillonröhrchen verdünnt, nachher sofort mit derselben, wenn das Material nur wenige Bakterien enthält, oder mit einer anderen sterilisierten Pipette, wenn man mit einem sehr bakterienreichen Material zu tun hat, etwas von der Bouillonverdünnung mit der Pipettenspitze aufgesaugt und in ein erstes Agarröhrchen übertragen, hier wird die Pipette gut und tief eingetaucht, genügend vom flüssigen Agar in die Pipette eingesaugt und wieder zurückgedrängt, ohne jedoch so stark einzublasen, damit keine Luftbläschen hineinkommen; das ist wichtig, denn das Nährsubstrat darf keineswegs gelüftet sein, nach einiger Erfahrung kann man das alles beherrschen und tadellos machen. Sodann wird wieder etwas in die Pipette eingesaugt, dann nochmals zurückgedrängt mit derselben Vorsicht, und schließlich wiederum etwas Agar eingesaugt, nachher wird die Pipette bis zum Boden des Kulturröhrchens getaucht und damit die Agarmasse zum Zwecke einer gleichförmigen Verteilung der darin eingeführten Bakterien sorgfältig umgerührt.

Nun wird die Pipette mit dem etwas eingesaugten Agar zurückgezogen, die Kulturröhrchen sofort zugestopft und in kaltes fließendes Leitungswasser gerade gesetzt zum Erstarren.

Die Pipette wird schnell in ein zweites Agarröhrchen tief eingetaucht, hier wird aber die kleine Agarmenge aus der Pipette nicht mehr zurückgedrängt, sondern darin behalten und es werden nur durch vorsichtiges und sorgfältiges Umrühren mit der Pipette die Bakterien in die ganze Agarmasse gut verteilt. Diesmal also werden nur die an der Pipettenspitze und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den äußeren Wänden derselben anhaftenden Bakterien zur Verdünnung verwandt, denn die Erfahrung hat uns gelehrt, daß, wenn man zum Zweck der Verdünnung die kleine Agarmenge aus der Pipette verwenden möchte, welche für gewöhnlich sehr bakterienhaltig ist, dann würde es notwendig sein, ein entsprechend sehr großes Kulturröhrchen zu benutzen und viel Arbeit aufzuwenden, um doch nur sehr schwer oder überhaupt nicht zu dem erwünschten Ziele zu gelangen. Die Pipette mit dem schon darin enthaltenen Agar wird also aus dem II. Agarröhrchen zurückgezogen und in ein III. Agarröhrchen tief eingetaucht, wo man genau in derselben Weise wie bei dem II. Agarröhrchen zu verfahren hat, und so fährt man weiter fort, bis man im ganzen 10 bis 12 Agarröhrchen wiederholt hat, zuweilen sind aber noch mehr Verdünnungen zum Zwecke einer befriedigenden Isolierung der Bakterien anzustreben, so sind z. B. für die Faeces, das Abflußwasser, die äußerst bakterienhaltig sind, bis 15—17—20 Röhrchen anzuwenden. Alles hängt von der im Ausstrichpräparate gefundenen Bakterienmenge ab, daher die Wichtigkeit der vorhergehenden bakterioskopischen Untersuchung des Materials.

Jedes Röhrchen wird sofort nach dem Beimpfen in kaltes fließendes Leitungswasser senkrecht gebracht, und sobald der Agar fest geworden ist, im Thermostaten bei 37° C gehalten. Es ist nicht nötig, die Röhrchen mit der laufenden Zahl zu markieren, denn die Kolonieenzahl der einzelnen Kulturen wird es am besten zeigen.

* * *

Jeden Tag ist dafür Sorge zu tragen, daß die beimpften Röhrchen nachgesehen und das Aussehen der erscheinenden Kolonieen genau betrachtet wird. Wie schon von Veillon, Rist, Guillemot, Cottet nachgewiesen wurde, gehören die an der Oberfläche oder doch in ihrer unmittelbaren Nähe, also in der lufthaltigen Zone keimenden Bakterienkolonieen, zu den streng aëroben oder fakultativen Bakterien, während diejenigen, welche in der Tiefe des Nährbodens, also in der luftfreien Zone auftreten, zu den fakultativen oder wohl den obligaten anaëroben Bakterien zuzuzählen sind.

Hierzu müssen wir jedoch bemerken, daß Rist und Guillemot behaupten, daß man in den letzten Kulturröhrchen fast ausschließlich Anaëroben finden muß, was jedenfalls unrichtig ist, da die Bakterienverteilung in den letzten Agarröhrchen ein reines Zufallsvorkommnis darstellt; bisweilen findet man im letzten Kulturröhrchen, und in dieser Hinsicht stimmen wir Jungano zu, eine einzige Bakterienart, und es ist dies gerade eine aërobe oder fakultative, während in den vorangehenden Röhrchen Anaëroben vorhanden sind.

Was nun die Art der sichtbar werdenden Kolonieen anbelangt, so stimmen wir mit Guillemot darin überein, daß schon der Zeitpunkt ihres Auftretens sichere Auskunft darüber geben kann. Diejenigen, welche schon innerhalb 24—48 Stunden wachsen, sind fast immer fakultative oder aërobe Bakterien, während fast alle Anaëroben gewöhnlich viel längere Zeit zu ihrer Entwickelung erfordern, durchschnittlich etwa 3—4—5 und sogar bis 10 Tage. Das kann aber nur als allgemeine Regel gelten, denn es gibt auch Ausnahmen, welche aber nicht häufig sind, wie z. B. den Bacillus perfringens (Welch) und Bacillus sporogenes (Metchnikoff), Bacillus parabifermentans sporo-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

genes (de Gasperi), diese können, trotzdem sie strenge Anaëroben sind, schon binnen 24—48 Stunden gedeihen, während der Bacillus bifidus (Tissier) sich gewöhnlich nach etwa 3 Tagen entwickelt etc.

Ganz in derselben Weise, wie oben beschrieben, lassen sich an Stelle des Agars die Isolierungs- und Züchtungsversuche der Anaëroben auch auf Gelatine (mit dem gewöhnlichen Trauben- und Milchzuckerzusatz versehen) ausführen.

Die Gelatine stellt schon an und für sich ein besseres Nährmedium für die Bakterien dar, als dies beim Agar der Fall ist. Denn erstens ist sie leichter zu handhaben, da sie nicht so leicht und unerwartet erstarrt, und dann ist auch die Kolonieenbeschaffenheit in den meisten Fällen viel charakterischer ausgeprägt, als auf Agar. Allerdings haften ihr aber auch große Nachteile an, wie z. B. eine kleinere Dichtigkeit, was sie luftpermeabler und daher etwas weniger geeignet zum Leben und Gedeihen der Anaëroben macht, und dann kann die Entwickelung der Bakterien nur bei einer relativ niedrigen Temperatur vorgenommen werden, was nicht allen Bakterien zuträglich ist; es wird dadurch das Entwickeln der Kolonieen zu sehr in die Länge gezogen und beansprucht zu viel Zeit. Hierzu gesellt sich noch als größter Nachteil die starke Verflüssigung der Gelatine seitens sehr vieler peptonisierender Anaëroben, welche hauptsächlich energische Fermente in Tätigkeit setzten, wodurch ein Vermischen der Kolonieen verursacht und das Isolieren unmöglich gemacht wird. Wenn wir also die Vorteile und Nachteile gegeneinander abwägen, so ist der Agar ganz entschieden der Gelatine vorzuziehen.

Jedenfalls, sobald eine Kolonie sich gut ausgebildet hat, wird sie zum Zwecke des Reinkulturanlegens und Fortzüchtens durch Uebertragung aufgefischt.

Um dies am zweckmäßigsten zu erreichen, wird in der Weise vorgegangen, daß man in den räumlich voneinander getrennten Kolonieen mit Hilfe einer sterilisierten, an der Spitze gut und sorgfältig, fast kapillarausgezogenen und dem Guillemotsche Ansatz angepaßten Pipette vorsichtig durch die Agarmasse bis zu der betreffenden Kolonie vordringt, wobei man besonders dafür Sorge zu tragen hat, daß nicht nur andere Kolonieen berührt, sondern daß man sich auch möglichst weit von ihnen befindet, damit jede Verunreinigung ausgeschlossen wird, was aber nur in Kulturen mit wenigen Kolonieen durchzuführen ist. Sobald nun die Kapillarspitze der Pipette gut in der erwünschten Kolonie eingedrungen ist, wird dieselbe durch Einsaugen gänzlich aufgefischt, die Pipette ebenso vorsichtig, aber schnell zurückgezogen und mit dem entnommenen Material neue Kulturen in der verflüssigten Agarmasse angelegt, welche nachher im Thermostaten bei 37° C gehalten werden.

Wenn bisweilen, was jedoch seltener der Fall ist, nach Ablauf mehrerer Tage die Kolonieenzahl etwas zu zahlreich geworden ist und dadurch das saubere Auffischen der gewünschten Kolonieen in der oben beschriebenen Weise schwer oder sogar unmöglich geworden ist, dann ist es ratsam, an der Stelle der gewünschten Kolonie das Glasröhrchen abzuschneiden, und die beiden Agarflächen durch Biegen sorgfältig voneinander zu trennen, was sehr leicht von selber geschieht. Nun wird die betreffende Agarschnittfläche in der Flamme einmal schnell durchgezogen und dann mit der Pipette die gewünschten Kolonieen gefischt, wie oben beschrieben; man vermeide sorgfältig dabei die Kondensflüssigkeit, die sich zwischen der Agarsäule und dem Glase befindet, zu berühren, denn dieselbe enthält immer mehrere Bakterienarten. Selbstverständlich wird die Agarsäule in dem geschnittenen Reagensglas an Ort und Stelle gelassen.

Wenn nun die isolierte Bakterienart eine fakultative ist, wird sie sich in Reinkultur in der ganzen Agarmasse bis ganz hinauf an der Oberfläche entwickeln und Kolonieen bilden, ist aber die betreffende Bakterienart eine obligat anaërobe, dann wird ihre Entwickelung in einer

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Entfernung von 1—2 cm gegen die Oberfläche zu stehen bleiben und nur in der Anaërobiosezone gedeihen.

Wir müssen aber dabei bemerken, daß es immerhin ratsamer ist, von der betreffenden, ziemlich gut entwickelten Kolonie zuerst ein mikroskopisches Präparat herzustellen und dieses sofort zu färben und zu untersuchen, bevor eine Reinkulturanlage gemacht wird. In dieser Hinsicht stimmen wir Rist und Jungano bei, denn die morphologische Beschaffenheit der Kolonieen ein und desselben anaëroben Bakteriums ist sich nicht immer gleich, sondern sie ist eine viel inkonstantere als die der Aërobenkolonieen. Deswegen möchten wir es als allgemeine Regel empfehlen, wenn möglich überhaupt alle zum Zwecke der Isolierung überzuimpfenden Kolonieen zuerst mikroskopisch zu untersuchen, damit das vielfache Isolieren einer und derselben Bakterienart vermieden wird, eine Vorsichtsmaßregel, die uns nicht bloß viel Arbeit, sondern auch viel Nährböden erspart hat.

Während einige aëroben oder fakultativen Bakterien, wie z. B. der Coli-Bacillus, Proteus etc., welche sehr oft die anaëroben Bakterien des zu untersuchenden Materials begleiten, leicht und schnell wachsen und sogar die Tendenz aufweisen, alles zu überwuchern, wachsen andererseits die anaëroben Bakterien im allgemeinen viel langsamer, es gibt sogar viele Arten darunter, welche ihrer Natur nach sehr zart sind, oder durch ihre Stoffwechselprodukte geschädigt werden, welche in Kulturen schnell ihr Leben einbüßen, was schon innerhalb 4—5 Tagen geschehen kann, auch wenn sie sich in Reinkultur befinden. Aus diesem Grunde darf man die Kulturröhrchen, sei es bei den Isolierungsversuchen, sei es bei Reinkulturen, insbesondere in den ersten Tagen nicht aus dem Thermostaten herausnehmen, sondern sehe dieselben nur schnell und kurz nach, besonders solange die Kolonieen noch nicht gut entwickelt sind. Desgleichen soll man für zarte Anaëroben dafür besorgt sein, daß die Fortimpfungen in Reinkultur öfters gemacht werden.

Repaci hat neulich ein Verfahren angegeben, um sehr zarte Anaëroben in Kultur lange Zeit am Leben zu erhalten. Er impft zwar ziemlich reichlich von der betreffenden Bakterienart ein Agarröhrchen in hoher Schicht, schließt das Röhrchen gut mit einer Kautschukkappe ab und bringt es sofort in den Eisschrank. Auf diese Weise bleiben die darin enthaltenen Bakterien monatelang latent lebendig.

* * *

Da nun die Trauben-Milchzuckeragarröhrchen einfach nur mit einem Wattepfropf verschlossen werden, scheint die Kultur sich jedenfalls unter aëroben Bedingungen zu vollziehen, was aber in Widerspruch mit unseren grundlegenden Kenntnissen über die Physiologie der Anaëroben stehen würde, denn für dieselben wirkt der Sauerstoff als ein starkes Gift, und sie können sich nur bei dessen Abwesenheit entwickeln. Will man aber darüber Aufschluß haben, inwieweit der Nährboden lufthaltig ist, dann kann man sich zur Sichtbarmachung farbiger, durch Reduktion leicht entfärbbarer Substanzen bedienen, welche, je nachdem das umgebende Medium luftfrei oder lufthaltig ist, ihre Farbe ändern, wie z. B. das Methylenblau, welches bei Luftanwesenheit seine charakteristische blaue Farbe behält, während es dieselbe bei Luftabwesenheit einbüßt und in ein farbloses Leukoprodukt (Chromogen) umgewandelt wird.

Wenn man nun dem Traubenmilchzuckeragar der Kulturröhrchen etwas Methylenblau, und zwar nur wenige Tropfen einer verdünnten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lösung zusetzt, dann wird der Nährboden sofort blau, beim Erwärmen im siedenden Wasserbad wird er aber durch die vollkommene Austreibung der Luft ganz farblos. Wird nun das Röhrchen in kaltes Wasser zum Erstarren gebracht, dann bläut sich der Nährboden nur ganz an der Oberfläche, und zwar nur auf einer Strecke von 1, höchstens 2 cm, was auch nach mehreren Tagen (15) bestehen bleibt. Wenn man in solche Kulturröhrchen, wenn der Nährboden noch flüssig bei etwa 40° C war, verschiedene streng anaërobe Bakterien in der oben beschriebenen Weise impft, dann sieht man nach einiger Zeit, daß die Entwickelung des betreffenden Bakteriums in einer gewissen Entfernung von der Agaroberfläche zum Stillstand kommt, während in der übrigen Agarmasse zahlreiche Kolonieen anzutreffen sind. Der oberflächliche kolonieenfreie Agarteil beträgt gewöhnlich 1 bis höchstens 2 cm Höhe, was für fast alle Anaëroben gilt. Diese Verteilung in zwei Zonen wird auch durch das Methylenblau angezeigt, indem die obere 1—2 cm breite Agarschicht blau gefärbt ist, während die übrig gebliebene Agarmasse farblos bleibt, was uns veranschaulicht, daß das Eindringen der Luft nur bis zu der von den anaëroben Bakterienkolonieen angezeigten Stelle stattfindet. Das Nährmedium wirkt also wegen des Trauben- und Milchzuckerzusatzes reduzierend. Es ist also durchaus notwendig, daß ein Teil des Nährmediums gar keine Luft enthält, wenn eine Anaërobenkultur zu erwarten ist. Daß die verschiedenen Anaëroben eine verschiedene Empfindlichkeit für den Sauerstoff besitzen, sieht man schon daraus, daß sie nicht alle bis zur selben Höhe der Agarsäule sich entwickeln, und je nach der Höhe, bis wo ein Anaërobe wächst, sieht man schon seinen größeren oder kleineren Anspruch auf Luftabwesenheit.

Die reduzierende Wirkung des Nährbodens, welche den zugefügten Kohlehydraten zu verdanken ist, wächst mit der Menge derselben. Jedoch kann eine gewisse Grenze nicht überschritten werden, sonst entwickeln zahlreiche Anaëroben große Mengen von Gasen, welche das Nährmedium zerreißen, den Wattestopfen wegschmeißen, und große Säuremengen, welche das Gedeihen der Bakterien hemmen und dieselben sogar töten. Man kann aber durch Versuche das Optimum vom Zusatz finden, wobei die beste Entwickelung mit dem geringsten Schaden ermöglicht wird.

Sobald also die Kulturröhrchen im Wasserbad verflüssigt werden, wird durch das Methylenblau angezeigt, daß die Luft vollkommen entwichen ist, und erst später beim Erstarren findet in dem Nährboden in der Nähe der Oberfläche Luftzutritt statt, allerdings nur in geringem Maße wegen der reduzierenden Wirkung der zugesetzten Zuckerarten. Auch durch Begießen der Agaroberfläche mit einer ziemlich breiten Schicht von sterilem Vaselin- oder Steinöl läßt sich der Luftzutritt nicht ganz vermeiden. Das Olivenöl eignet sich besser hierzu, denn es läßt sich selbst gut oxydieren, wodurch das Nährmedium geschützt wird. Es stellen dies aber unsaubere Methoden dar, die sich besonders beim Fortimpfen unangenehm fühlbar machen.

Wenn man der gewöhnlichen Bouillon etwas Methylenblau zusetzt und dann erwärmt, so wird die Flüssigkeit ganz farblos und erst nach 1—2-stündigem Stehenbleiben an der Luft wird sie wieder blau. Enthält aber die Bouillon ein Leber- oder noch besser ein Kartoffelstück, dann bleibt ein großer Teil der Bouillonmasse farblos, was sich durch das Vorhandensein des Traubenzuckers und anderer Kohlehydrate in den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tierischen und pflanzlichen Geweben, welche eine reduzierende Wirkung ausüben, erklärt.

Milch in größerer Menge enthält in der Tiefe keinen Sauerstoff, wie das durch Methylenblauzusatz auch nach 48 Stunden bezeugt wird, und die anaëroben Bakterien können sich daselbst entwickeln.

Damit sich ein anaërober Mikroorganismus entwickeln kann, ist es also nicht notwendig, daß derselbe sich im Vakuum befindet, wie es meistens geglaubt wird, denn auch in der freien Natur, wo die Anaëroben gedeihen, werden solche Bedingungen gewöhnlich nicht angetroffen; es muß also da Einrichtungen geben, welche ihr Leben ermöglichen. Auch in der Mundhöhle beim Menschen befindet sich eine weit reichere anaërobe als aërobe mikroskopische Flora, und trotzdem ist diese Höhle sehr viel gelüftet. In der Natur sind andere Bedingungen erfüllt, welche günstig auf die Entwickelung der Anaëroben wirken, nämlich dadurch, daß die meisten aëroben oder fakultativen Begleitbakterien bei ihrem Gedeihen verschiedene stark reduzierende Stoffwechselprodukte hervorrufen, welche das Eindringen der Luft zu den Anaëroben unmöglich machen, wie z. B. die Verbindungen, die die Schwefelwasserstoffsäure mit den verschiedenen Metallen eingeht (Sulfide), welche eben insbesondere eine stark reduzierende Wirkung ausüben. In der Mundhöhle an der Stelle der Zahnsteine ist auch in ähnlicher Weise durch Wucherung verschiedener Bakterien eine Anaërobiosezone geschaffen, und so können sich die Anaëroben ungestört entwickeln. Wichtig und wesentlich also ist, daß der Sauerstoff eben da verhindert wird, wo er einzudringen versucht.

Alles das beweist wohl vollkommen, daß die bei diesem Verfahren augenscheinlich unter aëroben Verhältnissen stattfindende Entwickelung der anaëroben Bakterien sich tatsächlich unter Sauerstoffabschluß vollzieht und daß an der Stelle, wo die Anaëroben gedeihen, auch anaërobe Bedingungen herrschen.

* * *

Bis jetzt haben wir nur die ausgezeichnten Vorteile dieser Isolierungs- und Züchtungsmethode erörtert; wir möchten aber auch den wohl einzigen Nachteil derselben erwähnen, welcher sich hauptsächlich bei den Isolierungsversuchen von Anaëroben unangenehm bemerkbar macht, sich jedoch leicht beseitigen bezw. ganz ausschließen läßt. Wie wir gesehen haben, entwickeln sich bei der Veillonschen Methode alle überhaupt entwickelungsfähigen Mikroorganismenarten (Kokken, Bacillen, Spirillen), und zwar ebensogut die anaëroben wie die fakultativen und aëroben. Nur ist die Entwickelung vieler davon, darunter insbesondere zahlreicher Anaëroben, an Gasbildung gebunden. Es ist nämlich Tatsache, daß man es häufig bei den Anaëroben mit Gasbildnern zu tun hat, wie dies z. B. beim Tetanusbacillus, Bacillus des malignen Oedems, Bacillus perfringens etc. oder anderen nicht obligat anaëroben beigemischten Bakterienarten, wie Coli-Bacillus, Proteus, Bacillus lactis aërogenes etc., der Fall ist, welche durch die Gasbildung das Nährmedium zerteilen und auseinanderreißen. Die Gasbildung kann sogar so stark sein, daß der Wattepfropf und Teile des Nährsubstrates hinausgeworfen werden, die Kolonieen durcheinander gemischt und die Isolierung verloren gehen kann; so kann z. B. bei der Isolierung der Bakterien in einem Falle von Appendicitis der Coli-Bacillus allein alles das verursachen, und damit ist der Isolierungsversuch gescheitert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Von den dabei reichlich gebildeten Gasen (CO_2, H, H_2S etc.) werden einige, wie der CO_2, vom Nährboden aufgesaugt, weil löslich, andere dagegen, wie der unlösliche H, nicht, dadurch wird aber der Nährboden zerrissen, die Kolonieen miteinander vermischt und das Isolieren unmöglich gemacht. Wenn man aber dem Nährboden etwas Kaliumnitrat zusetzt (Veillon et Mazé), und zwar im Verhältnis von etwa 1 Prom., dann wird der H vom Nitrat unter Bildung von H_2O und Nitriten, welche unschädlich sind, gebunden; der bei Sättigung sämtlichen Nitrats, was nur sehr selten vorkommen kann und nur bei schlechter Isolierung, wenn nämlich die Kolonieen zu dicht aneinander liegen, freiwerdende N wird ziemlich leicht vom Nährboden gelöst, so daß es praktisch unberücksichtigt bleiben kann. Diese Wirkung ist am besten zu beseitigen, wenn es dem Bacillus coli vergesellschaftet war.

Es gibt andererseits auch Bakterien, welche selbst die Nitrate und Nitrite zu reduzieren vermögen, dann findet überhaupt keine Gasbildung statt.

* * *

Trotzdem die Veillonsche Methode einer durchaus allgemeinen Anwendbarkeit fähig ist, gibt es doch spezielle Fälle, in denen nur auf einem Umwege gute Resultate erzielt werden können, und möchten wir jetzt zur Besprechung dieser Fälle übergehen.

Wenn sich in dem zu beimpfenden Material die anaëroben in der Minder-, die aëroben oder fakultativen Bakterien aber in der übertriebenen Mehrzahl befinden, wie es z. B. im Anfangsstadium der Fäulnis vorkommt, und dadurch die Entwickelung der ersteren, sei es wegen der Zerteilung des Nährbodens durch Gasbildung, sei es wegen Aenderung der Reaktion derselben durch die letzteren gehindert wird, so haben wir die von Rist für andere Zwecke angegebene Methode angewandt, wobei man zuerst das Material in Röhrchen mit gewöhnlicher Bouillon beimpfte, woraus nachher die Luft entfernt wurde. Auf solche Weise gelang es ihm, nach einer Anzahl von Ueberimpfungen nur die fakultativen und die anaëroben Bakterienarten darin zu erhalten, und erst dann wurde die Veillonsche Methode in Anwendung gebracht.

Wir haben in ähnlichen Fällen aber etwas anders verfahren. Vor dem Anlegen der Kultur durch Verdünnen in den Trauben-Milchzuckeragarröhrchen in hoher Schicht machten wir als ergänzende Kontrolle Kulturen aus dem gegebenen Material auf gewöhnlichen Petri-Schalen oder Roux-Flaschen zum Erhalten der aëroben und fakultativen Bakterienarten, sowie gleichzeitig eine oder zwei Kulturen in Bouillonröhrchen unter sorgfältiger nachfolgender Entfernung der Luft und Zuschmelzen der Kulturröhrchen an einer vorher ausgezogenen Stelle. In der Regel soll man zwei solcher Bouillonkulturen anstellen, und zwar die eine in gewöhnlicher Nährbouillon, mit einem durch Kochen geronnenen Eiweißwürfel versetzt, und die andere in traubenzuckerhaltiger Bouillon, ebenfalls mit Beigabe eines Eiweißwürfels. Diese Bouillonkulturen sollen erst nach 6—8-tägigem Aufenthalt im Thermostaten bei 37° C geöffnet werden, und zwar, wenn man sieht, daß der Eiweißwürfel sichtbar angegriffen oder auch geschwärzt ist. Jetzt sind nötigenfalls mikroskopische Präparate anzufertigen und sofort zu untersuchen, und daraus noch einmal ähnliche Bouillonkulturen anzulegen, die nach etwa 6 Tagen geöffnet werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auf diese Weise fanden wir immer, daß doch, wenn die fakultativen Bakterien nicht vollständig ausgeschlossen waren, wenigstens ihre Lebensfähigkeit stark beeinträchtigt und geschädigt und ihre Zahl stark herabgesetzt war, während andererseits die anaëroben Bakterien eine starke Vermehrung aufwiesen; dadurch wurde die sofort folgende Ausführung der Veillonschen Methode mittels eines in dieser Weise vorbereiteten Materials immer erfolgreich.

Eine weitere wichtige Modifikation in der Ausführung der Methode wird durch die Anwesenheit von sporentragenden, also widerstandsfähigen Bakterien bedingt, was oft vorkommt, da die Anaëroben zumeist Sporenbildner sind. Das in solchen Fällen anzuwendende Verfahren hängt von der Zahl der Sporen und andererseits von der Art der dazu gehörigen Bakterienart ab.

Wenn man in der Tat bei der bakterioskopischen Untersuchung der, sei es aus dem auszusäenden Material, sei es aus der vorangehenden versuchten Bouillonkultur hergestellten Ausstrichpräparate nur sehr vereinzelten sporentragenden Bakterienzellen begegnet, welche dem Bac. putrificus, Bac. perfringens oder Bac. sporogenes angehören könnten, dann ist es zweckmäßig, zuerst eine Kultur in einem Röhrchen mit gewöhnlicher, mit einem geronnenen Eiweißstück versetzter Bouillon zu besäen, die Luft daraus zu entfernen, in der Gebläseflamme die Röhrchen luftdicht zu schließen und danach im Thermostaten während 5—6 Tagen zu behalten, und zwar bis das Eiweißstück deutlich angegriffen wird. Nunmehr wird die Bouillonkultur geöffnet, ein Ausstrichpräparat daraus gemacht, damit man sich überzeugt, daß die Sporen zahlreicher geworden sind, und sofort ein Isolierungsversuch auf mehreren (5—6) Trauben-Milchzuckeragarröhrchen in hoher Schicht und bei der Temperatur des siedenden Wassers vorgenommen. Die Röhrchen sind dann gleich in kaltes fließendes Leitungswasser zu stellen und nach dem Erstarren bei 37° C zuhalten. Es wird nun eine leichte Aufgabe sein, die verschiedenen isolierten Bakterien zu differenzieren, wenn man die morphologische Beschaffenheit der entstehenden Kolonieen und die mikroskopische Untersuchung der betreffenden Bakterien in Betracht zieht.

Wenn bei der bakterioskopischen Untersuchung von verschiedenen auszusäenden Materialien und insbesondere von Faeces nur sehr wenige sporentragende anaërobe Individuen gefunden werden, dann ist es besser, zunächst ein solches Material in ein gewöhnliches steriles leeres Reagenzglas zu bringen, woraus dann die Luft vollkommen verdrängt wird, in der Gebläseflamme zugeschmolzen und im Thermostaten bei 37° C einige Zeit verweilen zu lassen, damit die gewünschten Bakterien sich stark vermehren und auch Sporen bilden können. Auf diese Weise wird dann die Isolierung sehr erleichtert.

Haben nun dagegen die ersten Ausstrichpräparate des Materials ziemlich zahlreiche Sporenformen aufgewiesen, nach deren morphologischer Beschaffenheit und sonstigen Einzelheiten sowie ihrem färberischen Verhalten wir berechtigt sind, anzunehmen, daß wir es mit gut bekannten Bakterienarten zu tun haben, dann machen wir außer den gewöhnlichen Isolierungsverdünnungen in Trauben-Milchzuckeragar bei 40° C noch eine Reihe von Verdünnungen in 5—6 ähnlichen Agarröhrchen bei der Temperatur des siedenden Wassers, welche dann in kaltes fließendes Leitungswasser zum Erstarren kommen. Auf diese Weise werden die sporentragenden Bakterien leicht voneinander isoliert. In solchen Fällen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wenden wir auch die neulich von Metchnikoff in seinen Untersuchungen über die Darmflora als sehr dafür geeignet empfohlene Methode an. Wollen wir z. B. den Bac. putrificus in Reinkultur erhalten, dann wird zunächst das auszusäende Material in ein Nährbouillonröhrchen einen Würfel von geronnenem Eiweiß enthaltend, besät, die Luft daraus entfernt und in der Gebläseflamme luftdicht verschlossen. Nach Ablauf mehrerer Tage bei 37° C, sobald der Eiweißwürfel sichtbar angegriffen und geschwärzt ist, wird die Kultur geöffnet und daraus Kulturen in Trauben-Milchzuckeragar in hoher Schicht angelegt, wo es dann ziemlich leicht ist, die charakteristischen behaarten Kolonieen des Bac. putrificus zu erkennen.

Wird speziell die Isolierung des Bac. perfringens bezweckt, so muß man sich zuerst vergewissern, ob in den aus dem betreffenden Material hergestellten Ausstrichpräparaten unter den großen, grampositiven, an ihren Enden querabgeschnittenen oder leicht abgerundeten Bacillen, die höchstwahrscheinlich dieser Bakterienart angehören, auch sporentragende sich befinden. Wenn das der Fall ist, dann wird die von Rettger angegebene Isolierungsmethode angewandt, indem man etwas Material in sterilisierten Milchröhrchen beimpft und dann die Röhrchen in ein kaltes Wasserbad gesetzt und darin beim Sieden noch etwa während $1^1/_2$—2 Minuten im siedenden Wasser behält. Der an der Milchoberfläche schwimmende Rahm schützt die darunter befindliche Flüssigkeit gegen das Eindringen von Luft, wodurch dem Bac. perfringens im Thermostaten bei 37° C ein schnelles Wachstum ermöglicht wird. Dabei gerinnt die Milch und es bildet sich eine schwammige harte Gerinnselmasse, aus welcher eine fast klare Flüssigkeit entweicht; diese Flüssigkeit enthält den Bac. perfringens sehr häufig schon in Reinkultur.

Wenn es sich nun um das Erhalten von Reinkulturen des Bac. sporogenes handelt, sobald derselbe im Ausstrichpräparate des Materials nachgewiesen wurde, werden Kulturen in Trauben-Milchzuckeragar in hoher Schicht bei der Temperatur des siedenden Wassers vorgenommen oder in Röhrchen mit gewöhnlicher oder zuckerhaltiger Nährbouillon und geronnenen Eiweißwürfeln angesetzt, die Luft entfernt und in der Gebläseflamme geschlossen und dann sofort 1—2 Minuten im siedenden Wasserbad gehalten. Auf diese Weise haben wir fast immer nach 48 Stunden bei 37° C Reinkulturen des betreffenden Bacillus erhalten.

Für eine vollständige bakteriologische Untersuchung der Flora des gegebenen Materials genügt aber das alleinige Isolieren der obligat anaëroben Bakterien nicht, sondern man muß eine erschöpfende Trennung und Identifizierung aller darin enthaltenen Bakterien, die in den Ausstrichpräparaten aufgefunden worden sind, anstreben, also eine Isolierung der streng anaëroben, fakultativen und obligat aëroben Mikroorganismen. Trotzdem die Veillonsche Methode an und für sich auch zum Trennen der streng aëroben Bakterien befähigt ist, ist es immerhin besser, sich dieselbe nur für die Isolierung der Anaëroben vorzubehalten, während für die fakultativen und streng aëroben Mikroorganismen nach dem Beimpfen einiger Traubenmilchzuckeragarröhrchen in hoher Schicht der Inhalt derselben schnell auf Petri-Schalen oder Roux-Flaschen gegossen wird und unter aëroben Bedingungen zur Bebrütung gestellt werden.

Jede isolierte Bakterienart wird sofort in Reinkultur erhalten und für sich studiert. Zu diesem Zwecke bedient man sich der speziellen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Untersuchungsverfahren für die anaëroben bezw. aëroben Bakterien, je nach der Bakterienart, mit der wir zu tun haben; auf diese Weise werden die hauptsächlichen besonderen Lebenseigenschaften festgestellt, und zwar:

- Mikroskopisches Aussehen,
  Beweglichkeit,
  Verhalten bei der Färbung (chromophile Reaktion).
- Kulturbeschaffenheit (Form derselben, Farbe etc.).
  Flüssige Nährböden: Peptonbouillon mit und ohne Zusatz verschiedener Zuckerarten, Milch.
  Feste Nährböden: Gelatine, schräg und gerade erstarrter Agar, Kartoffel.
- Wirkung auf verschiedene Kohlehydrate und Eiweißstoffe (Gärungs- und Fermentvermögen, Stoffwechsel etc.).
- Tierpathogenität usw.

* * *

Wir möchten hieran noch einige kleine Bemerkungen knüpfen.

Für die Bouillonkultur werden gewöhnliche Bouillonröhrchen verwandt. Nach dem Beimpfen werden diese etwa in der Mitte oder ein wenig oberhalb in der nicht zu großen Gebläseflamme gut ausgezogen, damit der ausgezogene Teil ziemlich eng, jedoch solid sei, sodann wird nach dem Erkalten der Wattebausch hineingeschoben und die Mündung des Reagenzglases mit einem sehr gut passenden Kautschuk- oder Gummistopfen, welcher in der Mitte durchbohrt ist und ein dicht unter ihm endendes Glasrohr passieren läßt, versehen. Das Glasrohr wird mit einer Luftpumpe oder Wasserstrahlluftpumpe in Verbindung gebracht und die Luft sorgfältig und möglichst vollständig entfernt. Es ist nötig, während der Luftverdrängung das Reagenzglas ab und zu mit einer schwachen Gasflamme leicht (bei 20—25° C) und etwas stärker oberhalb des Flüssigkeitsniveaus, damit die entstandenen Blasen daselbst bersten, zu erwärmen, damit der entstehende Schaum den Watteropf und die Kultur nicht beschmutzt. Wenn die Luft vollständig ausgetrieben worden ist, was man daran erkennt, daß die zuerst lufthaltigen Blasen weißlich und undurchsichtig sind, während die zuletzt erscheinenden Blasen der luftleeren Flüssigkeit opalin und durchsichtiger aussehen, dann wird das Röhrchen an der vorher ausgezogenen Stelle in der Kleinstellerflamme des Bunsenbrenners recht sorgfältig zugeschmolzen und getrennt.

In derselben Weise werden die Milchkulturen behandelt.

Um nun noch die Kulturbeschaffenheit der Anaëroben auf der Oberfläche fester Nährböden studieren zu können (Strichkultur), muß man besondere Vorsichtsmaßregeln anwenden. Die Kulturen auf Kartoffel werden in den Rouxschen Reagenzgläsern, die auf schräg erstarrtem Trauben-Milchzuckeragar in Reagenzgläsern vorgenommen, nur muß man nicht nur die Luft ganz entfernen, sondern auch einen Wasserstoffstrom wenn möglich zur Verdrängung der Luft einleiten. Das Erstarren des Agars soll sogar unter einem fortwährenden Wasserstoffstrome statthaben, denn sonst würde der Agar beim Erstarren viel Luft aufnehmen, und ist es äußerst schwer, sogar unmöglich, die auf diese Weise absorbierten Gase wieder zu entfernen. Der Trauben- und Milchzuckerzusatz unterstützen durch ihre reduzierende Kraft diesen Vorgang.

Möchte man speziell die proteolytische Fermentwirkung eines in Reinkultur erhaltenen Anaëroben klarstellen, dann wird er in Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung und einem geronnenen Eiweißwürfel

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

besät, die Luft verdrängt, das Glasröhrchen, wie oben beschrieben, verschlossen und einige Zeit im Thermostaten gehalten. Die sich vermehrenden Bakterien haben kein anderes Nährmittel als Eiweiß und sie können sich nicht vermehren, wenn das Eiweiß nicht angegriffen wird.

In derselben Weise kann man die Wirkung auf Cellulose studieren, indem man Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung und Stücke von Fließ- oder gewöhnlichem Papier, Stroh, Heu, Mohrrübe bereitet, sterilisiert und die Bakterien darin sät.

Es gibt auch Anaëroben, Bac. perfringens scheint aber bis jetzt das einzige bekannte Beispiel darzustellen, welche nur in durchaus zuckerfreien Nährmedien Sporen zu bilden imstande sind, so daß man um ihm die Sporenbildung zu begünstigen, ihn in gewöhnlicher Bouillon oder physiologischer Kochsalzlösung mit Eiweißwürfel, gewöhnlicher Gelatine und Agar in hoher Schicht züchten soll.

Bevor wir schließen, möchten wir noch einmal kurz die Mittel und Geräte aufzählen, welche zur Züchtung und Isolierung der Anaëroben nach dieser einfachen Methode gebraucht werden:

Gewöhnliche und größere Reagenzgläser,

Glasröhrchen zur Herstellung der Pasteurschen Pipetten,

der Guillemotsche Ansatz, den man sich selbst herstellen kann.

Als Laboratoriumseinrichtung:

Die Gebläseflamme und

eine Luft- oder Wasserstrahlluftpumpe.

Die Einfachheit und Bequemlichkeit dieser auf mechanischem Abschluß der Luft beruhenden Methode wird noch viel mehr von dem empfunden werden, welcher sich ihrer für seine Studien bedienen wird.

Paris, Oktober 1910.

Literatur.

Pasteur, Compt. rend. de l'Acad. de scienc. T. 56. 1863.
Veillon, Thèse de Paris. 1893.
— Arch. de méd. expérim. 1894.
— et Zuber, Rech. sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle en pathologie. (Arch. de méd. expérim. 1898.)
Rist, Thèse de Paris. 1898.
Hallé, Thèse de Paris. 1898.
Cottet, Thèse de Paris. 1899.
Guillemot, Thèse de Paris. 1899.
Tissier, Thèse de Paris. 1900.
— et Martelly, Rech. sur la putréfaction de la viande de boucherie. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902.)
Rettger, Journ. of biolog. chemistry. 1906.
Metchnikoff, Etudes sur la flore intestinale. (Ann. de l'Instit. Pasteur. 1908.)
Jungano, La flore de l'appareil urinaire normal et pathologique. 1908.
De Gasperi, Compt. rend. Soc. de Biolog. 1909.
Veillon et Mazé, Compt. rend. Soc. de Biolog. 1910.
Repaci, Compt. rend. Soc. de Biolog. 1910.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber die violette Farbe bei hämolytischen Versuchen.

Von Dr. **J. Kostrzewski,**
Assistenten an der k. k. medizinischen Universitätsklinik zu Krakau.

Es ist in vielen Laboratorien eine sehr häufig beobachtete Tatsache — wenn sie in manchen nicht zur Regel wird —, daß bei den mit Hämolyse verlaufenden Versuchen in den Gläsern, in denen Blutkörperchenauflösung eingetreten ist, eine violette Farbe zum Vorschein kommt. Bekanntlich tritt diese violette Farbe manchmal schon während des Versuches im Brutschranke, meistenteils jedoch in Gläsern, die einige Stunden bis 2—3 Tage bei Zimmertemperatur gestanden haben, aber auch obwohl seltener und schwächer in Gläsern, die im Eiskeller aufbewahrt wurden, auf. Auf die Frage über die Ursache dieser Erscheinung lautet allgemein die Antwort: „Wahrscheinlich ein Reduktionsprozeß" oder „ein Reduktionsprozeß vielleicht infolge einer Infektion".

Auf Grund zahlreicher Versuche, welche im staatlichen Seruminstitute Madsens in Kopenhagen angefangen und im serologischen Laboratorium der medizinischen Klinik Jaworskis in Krakau zu Ende gebracht wurden, ist es uns möglich, Näheres über das Hervortreten der violetten Farbe zu berichten.

Bei den Züchtungs- und Isolierungsverfahren aus den Gläsern mit violettem Inhalt hat man zu wiederholten Malen ein ziemlich kurzes, mit starken Eigenbewegungen begabtes Stäbchen bekommen; der Befund an diesem Stäbchen war bei wiederholtem Züchtungsverfahren auffallend konstant. In einigen Fällen sogar, besonders wenn die violette Farbe schon beim Aufenthalte im Brutschranke auftrat, hatte man von Anfang an Reinkulturen dieses Stäbchens bekommen. Nähere bakteriologische Untersuchung ergab, daß es sich um ein der Proteus-Gruppe zugehöriges Bakterium handelt; — gekennzeichnet ist dieser Proteus durch starke hämolytische Eigenschaften. Bringt man Blutkörperchenaufschwemmung mit einer lebenden Bouillon- oder einer auf Uschinskys eiweißfreiem Nährboden gezüchteten Kultur dieses Proteus zusammen und stellt sie in den Brutschrank, so beobachtet man mit dem Hämolyseeintritt zugleich das Hervortreten einer äußerst starken violetten Farbe. Werden in verschiedene Gläser mit gleichem Gehalt an Blutkörperchenaufschwemmung verschiedene Mengen der Kultur getan, so tritt die violette Farbe in verschiedenen Gläsern verschieden auf, was die Stärke und Zeit anbelangt, aber immer so wie der Hämolysegrad, um so stärker und rascher, je größer die zugefügte Kulturmenge war. Dieses Eintreten der violetten Farbe im Brutschranke gleichzeitig mit dem Auflösen der Blutkörperchen und konstant in ihrer Stärke und Eintrittszeit abhängig von der zugefügten Kulturmenge wurde niemals vermißt, sobald mit einer lebenden, unfiltrierten Kultur gearbeitet wurde. Hat man die hämolytischen Versuche mit einem Filtrat, das man von einer Chamberland- oder Berkefeld-Kerze bekommen hat, angestellt, so hat man niemals während des 2-stündigen Stehens der Gläser im Brutschrank die violette Farbe gesehen; desgleichen niemals binnen des 2 Stunden langen Versuches im Brutschranke, wenn man mit einer unfiltrierten, aber durch 2—3 Stunden vor dem Arbeitseintritt mit Toluol

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oder Karbol behandelten Bouillon- wie einer auf Uschinskys eiweißfreiem Nährboden gezüchteten Kultur gearbeitet hat. Die violette Farbe tritt in den Gläsern erst später, bei einige Stunden langem Stehen derselben bei Zimmertemperatur auf, und zwar weit schwächer und so unregelmäßig und ungleichmäßig, wie bei sonstigen anderen Versuchen, die mit einem beliebigen Material angestellt werden.

Hat man in einige Gläser, in denen vollständige Hämolyse durch Kulturfiltrat hervorgerufen wurde und keine Spur von violetter Farbe vorhanden war, 2—3 Tropfen von Bouillon- oder auf Uschinskys eiweißfreiem Nährboden gezüchteter Kultur hinzugefügt, so tritt in diesen Gläsern in kurzer Zeit sehr starke violette Farbe auf, wogegen in den anderen, die ohne obigen Zusatz geblieben sind, zu dieser Zeit noch nichts von derselben wahrzunehmen ist.

Die obigen Versuche haben erwiesen, daß bei hämolytischen Versuchen mit Proteus in Bouillon- wie auch auf Uschinskys eiweißfreiem Nährboden gezüchteter Kultur die violette Farbe während des Versuches im Brutschranke eintritt und streng abhängig ist von der zugefügten Kulturmenge, was ihre Stärke und Eintrittszeit anbelangt, nur dann, wenn man mit einer lebenden, unfiltrierten Kultur arbeitet; bei Versuchen mit abgetöteter Kultur oder Kulturfiltrat tritt sie erst nachträglich beim Stehenlassen der Gläser bei Zimmertemperatur auf und hängt vom Zufall ab.

In Gläsern, in denen die violette Farbe zu beobachten ist, bleibt die obere, ca. $^1/_2$—1 cm dicke Schicht von dieser frei. Die Farbe verschwindet auf einmal im ganzen Inhalte des Glases, wenn man nur einmal das Glas schüttelt, um nach kurzer Zeit wieder hervorzutreten. Es wurde einmal ein Glas binnen 7 Stunden 8mal geschüttelt, wobei das abermalige Verschwinden und Hervortreten der violetten Farbe beobachtet wurde. Das Produkt des Reduktionsprozesses ist sehr labil; aus demselben Grunde kann man auch verstehen, warum die obere Schicht des Glasinhaltes von der violetten Farbe verschont bleibt.

Daß manche Proteus-Arten hämolytische Eigenschaften besitzen, weiß man seit den Untersuchungen von Kraus. Die hämolytischen Eigenschaften des von uns gezüchteten Proteus wurden am Pferde-, Ochsen-, Hammel- und Kaninchenblut festgestellt. Von anderen, in dieser Richtung untersuchten Stämmen (diese verdanken wir der Liebenswürdigkeit des Dr. Philipp Eisenberg) haben sich hämolytisch erwiesen:

Proteus aus einer Meningitis gezüchtet,
„ „ „ Dysenterie „
„ „ „ Cystopyelitis „

Keiner von diesen steht, was die hämolytische Stärke anbelangt, dem von uns gezüchteten Stamme nahe; alle sind in gleicher Weise gekennzeichnet durch die Eigenschaft, die violette Farbe im Brutschranke hervorrufen zu können. Ohne hämolytische Eigenschaften haben sich gezeigt:

Proteus mirabilis
„ Zenkeri I
„ Zenkeri II
„ Zopfii I
„ Zopfii II

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung.

In den von uns untersuchten Fällen der violetten Färbung im hämolysierten Glasinhalte wurde als Ursache Infektion des Materiales mit einem zur Proteus-Gruppe gehörigen Stamme gefunden.

Nachdruck verboten.

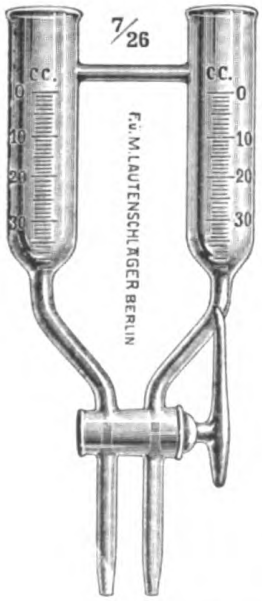
Ein Apparat zur Erleichterung der Romanowsky-Färbung.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin (Direktor: Geh. Obermedizinalrat Prof. Dr. Gaffky).]

Von Prof. Dr. **Claus Schilling.**

Mit 1 Figur.

Verschiedene Versuche mit den Modifikationen der Romanowskyschen Methylenblau-Eosinmethode hatten mich dazu geführt, das ursprüngliche Verfahren — Mischung der beiden Komponenten — als die energischste und zuverlässigste wieder aufzunehmen. Im Verlaufe der Versuche hatte sich weiterhin herausgestellt, daß die Färbung am kräftigsten ausfiel, wenn die beiden Lösungen im Momente der Mischung aufgebracht wurden. Schon der Zeitverlust, der entsteht, wenn man die beiden Lösungen im Reagensglase mischt und erst dann auf die Blutschicht bringt, verursachte eine Herabsetzung der Färbekraft des Gemisches. Ich habe mir deshalb einen Apparat herstellen lassen, der einerseits eine sehr innige Mischung hervorruft, anderseits das Gemisch sofort auf das Präparat bringt. Er ist aus der beigegebenen Zeichnung ohne weiteres verständlich. Zu bemerken ist nur, daß der Hahn bei jeder Färbung ganz geöffnet werden muß, was dadurch erreicht wird, daß der Handgriff des Hahnes so weit verlängert ist, daß er bei voller Oeffnung an die Auslaufröhre des rechten Zylinders anschlägt. Ich spanne den Apparat mit seiner Querverbindung in eine Klemme, wie sie bei den Chemikern gebräuchlich ist, ein, schraube sie an ein Stangenstativ an und bringe unter den Abflußröhren einen Trichter an. Unter dessen Oeffnung werden die Objektträger auf einen langen U-förmigen Glasstab quer über eine große Schale gelegt.



Die von mir verwendeten Farblösungen haben folgende Zusammensetzung:

1) Stammlösung: Mansonsches Borax-Methylenblau: Methylenblau medicinale Höchst[1]) 2 g, Borax 5 g, Wasser 93 g. Hiervon geben 2 Teile, mit 98 Teilen Wasser verdünnt, die Farblösung.

2) Eosin B, A extra Höchst[1]) 0,2 g auf 1000 Wasser.

1) Die Vorschrift gilt nur für diese Marke.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Je älter die Methylenblaulösung, desto besser färbt sie, doch ist auch frische Lösung brauchbar.

Die Kaliber der beiden Ausflußröhren sind faßt absolut gleich weit, so daß nahezu gleiche Mengen beider Lösungen in den Trichter und von da aufs Präparat fließen. Sollte dies nicht der Fall sein, so werden die kleinsten Modifikationen in der Verdünnung der beiden Komponenten genügen, um gute Resultate zu erhalten.

Frische Blutpräparate sind nach 8—10 Minuten gefärbt. Man hüte sich, die Farbflotte von den Objektträgern ablaufen zu lassen und erst dann abzuspülen. Das Präparat wird dann durch die feinen Schlieren der Farblösung unbrauchbar gemacht; man spüle vielmehr die Farbflotte direkt durch einen Wasserstrahl herunter.

Will man sehr intensiv färben, so spült man schon nach 2 Minuten ab, läßt das Wasser vom Objektträger ablaufen und gibt neue Farbe auf, die 5 Minuten stehen bleibt. Dann sind auch dicke Blutschichten („dicke Tropfen" nach Ross-Ruge) gut durchgefärbt.

Die Methode ist sehr sparsam und zeitsparend, namentlich in vielbeschäftigten Laboratorien. Alle Blutparasiten und Bakterien färben sich kräftig. Der einzige Nachteil — wenn man es so nennen will — ist der, daß die Blutkörperchen einen blaßbläulichen Farbton annehmen, der aber mit dem lebhaft himmelblauen der Protozoen (Plasmodien usw.) kontrastiert. Der Apparat ist bei Lautenschläger-Berlin zu haben.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Sterilisatorfleischbrühe von Schlachthöfen zur Verarbeitung zu Nährböden für Bakterienzüchtung,

mit besonderer Berücksichtigung der für die bakteriologische Fleischbeschau benötigten Spezialnährböden.

[Aus dem Institut für Seuchenlehre der Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu Stuttgart (Vorstand: Prof. Dr. Reinhardt).]

Von Oberamtstierarzt **Stolpp,** Nürtingen (Württemberg).

Mit 2 Textfiguren.

Einleitung.

Die Tatsache, daß die von Loeffler begründete Herstellungsweise des für Nährbouillon, Gelatine- und Agarnährböden die Grundlage darstellenden Fleischwassers schon manche Modifizierung erfahren hat, beweist, daß im Laufe der Zeit diese Art der Fleischwasserbereitung in verschiedener Hinsicht nicht befriedigte.

Nach zweierlei Richtungen besonders wurde durch die bisherigen Aenderungs- bezw. Ersatzvorschläge eine Verbesserung erstrebt: Vereinfachung des umständlichen, zeitraubenden Verfahrens und Verbilligung des verhältnismäßig teuren Produkts.

Diese beiden Faktoren haben bei der gegen früher ganz immensen Steigerung des Verbrauchs an Nährböden durch die vielseitige Ausgestaltung der bakteriologischen Laboratoriumsarbeit begreiflicherweise eine erhöhte Bedeutung erlangt.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eine ganz erhebliche Steigerung des Bedarfs an Nährböden ist durch den in der letzten Zeit sich vollziehenden Ausbau der bakteriologischen Fleischbeschau schon erfolgt und noch weiter zu erwarten.

Es wird die Zeit nicht mehr fern sein, bis jedes unter tierärztlicher Leitung stehende Schlachthaus sich dem Bedürfnis nach einem bakteriologischen Laboratorium nicht mehr verschließen kann.

Die bisherigen Versuche, die Fleischwasserbereitung in der obengenannten Richtung zu verbessern, haben sich in der Hauptsache damit beschäftigt, das Fleisch durch verschiedene Arten von Fleischextrakt zu ersetzen.

Die Erfolge, die damit erzielt worden sind, könnten bezüglich der Vereinfachung der Herstellung und auch bezüglich der Verbilligung befriedigen.

Die Frage jedoch, ob in den Fleischextraktpräparaten hinsichtlich der Brauchbarkeit der daraus hergestellten Nährböden zu Bakterienzüchtung ein vollwertiger Ersatz für das Fleisch geboten wird, dürfte nicht ohne weiteres zu bejahen sein. Jedenfalls haben Versuche von Schneider und Seligmann (1) zu Anhaltspunkten für eine gegenteilige Auffassung geführt.

Auf Grund neuerer Versuche hat Hart (2) empfohlen, an Stelle des Fleischextrakts Maggi-Erzeugnisse zur Herstellung von Bouillon zu verwenden. Aenderung des biologischen Verhaltens der Bakterien auf solchen Maggi-Nährböden, besonders auch der Virulenz derselben, hat Hart nicht beobachtet. Die Einfachheit der Zubereitungsweise steht der Fleischwasserbereitung aus Fleischextrakt nicht nach.

Seit durch das Reichs-Fleischbeschaugesetz vom 3. Juni 1900 der Begriff des „bedingt tauglichen" Fleisches in die praktische Fleischbeschau eingeführt worden ist, hat die vorgeschriebene Tauglichmachung solchen Fleisches durch Kochen oder Dämpfen in größeren Schlachthöfen zur Aufstellung besonderer Apparate für diesen Zweck geführt. Diese ermöglichen auf verschiedene Weise — sei es durch kochendes Wasser oder durch strömenden Wasserdampf — die Sterilisierung großer Mengen Fleisch und liefern, als bis vor kurzem wenig beachtetes Nebenprodukt, eine Fleischbrühe, die nach dem ganzen Vorgang ihrer Herstellung in hohem Grad geeignet erscheinen muß, einen brauchbaren Ersatz für das Loefflersche Fleischwasser zu liefern.

Untersuchungen über diesen Gegenstand sind bis jetzt in der Literatur nicht verzeichnet.

Bongert (3) allein weist auf die Brauchbarkeit dieser Brühe hin, nähere Anhaltspunkte über diesbezügliche Versuche sind nicht angegeben.

Da, wie oben erwähnt, der Bedarf an Nährböden gerade für Schlachthauslaboratorien jetzt schon ein bedeutender ist und künftig zweifellos sich noch steigern wird, ist es von praktischem Wert, genaue Anhaltspunkte darüber zu bekommen:

1) Ob und unter welchen Bedingungen Fleischbrühe aus Sterilisatoren zur Herstellung von Nährböden mit Erfolg verwendet werden kann;
2) ob sie sich besonders zur Anfertigung der speziell für die bakteriologische Fleischbeschau benötigten Nährböden eignen.

Zur Lösung dieser Fragen beizutragen, ist der Zweck der vorliegenden Arbeit.

Als Grundlage für vergleichende Betrachtungen ist zunächst erforderlich, die Art der Herstellung von Normalfleischwasser in kurzem anzuführen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach der ursprünglich von Loeffler angegebenen Vorschrift ist dabei in folgender Weise zu verfahren:

Ein bestimmtes Quantum, von Fett und Sehnen möglichst befreiten, frischen Fleisches einer beliebigen Tierart wird fein gehackt, mit der doppelten Menge Wasser versetzt und das Gemisch in einem Glaskolben 24 Stunden stehen gelassen. Neben der Auslaugung des Fleisches durch das Wasser soll auf diese Weise eine Zersetzung der Glykose herbeigeführt werden, damit durch nachträgliche Säuerung derselben das Wachstum der Bakterien nicht ungünstig beeinflußt werde (4).

Hierauf wird die Flüssigkeit vom Fleisch gut abgepreßt, filtriert und ist zur weiteren Behandlung fertig. Um das lange Stehenlassen der Fleischwassermischung zu umgehen, wird jetzt vielfach so verfahren, daß man das kalt zugesetzte Hackfleisch mit der vorgeschriebenen Menge Wasser unter häufigem Umrühren 1—2 Stunden kocht und filtriert, bis die Lösung klar ist.

Durch Zusatz von Pepton (1 Proz.) und Kochsalz (0,5 Proz.) wird dann in der bekannten Weise weiter Bouillon bereitet.

Die Gewinnung der Fleischbrühe in den Sterilisatoren vollzieht sich in der folgenden Weise:

Zur Brauchbarmachung bedingt tauglichen Fleisches steht jetzt eine Reihe von Apparaten zur Verfügung, die alle nach dem Prinzip konstruiert sind:

Erfüllung der hygienischen Anforderungen unter möglichster Erhaltung des Nährwertes und der Schmackhaftigkeit des Fleisches und unter tunlichster Vermeidung unnötiger Gewichtsverluste.

Während bei älteren Apparaten das Kochen des Fleisches direkt in Wasser geschah, wurde, in der Erkenntnis des höheren desinfizierenden Wertes des Dampfes und mit Rücksicht auf die größere Schmackhaftigkeit gedämpften Fleisches, bei den neueren Konstruktionen die Sterilisation mittels direkten oder indirekten, möglichst luftfreien Dampfes zu bewirken gesucht.

Die Apparate bestehen meist aus einem eisernen zylindrischen oder mehr kubischen Kessel, in dessen Innenraum eine Anzahl Drahtkörbe etagenweise übereinander angebracht werden können, die mit dem zu sterilisierenden, zerlegten Fleisch beschickt werden.

Da nun die direkte Einwirkung des oft verunreinigten Kesseldampfes auf das Fleisch infolge der Möglichkeit einer Verunreinigung des Fleisches bezw. der Brühe nachteilig empfunden wurde, wird bei den neuesten Konstruktionen fast ausschließlich mit indirektem Dampf gearbeitet.

Dies geschieht in der Weise, daß der Kesseldampf nur den unter dem Aufnahmegefäß angebrachten Doppelboden durchströmt und den Sterilisierdampf erst aus einem bestimmten Quantum frisch in den Apparat gefüllten Wassers erzeugt.

Die nach dem Fleischbeschaugesetz zulässige Höchsttemperatur von 80° C im Innern der Fleischstücke ermöglicht es, den Gewichtsverlust des Fleisches so zu reduzieren, daß bei Schweinefleisch mit nur 12 bis 13 Proz., bei Rindfleisch mit 25—26 Proz. Verlust gerechnet werden kann.

Die wichtigsten Sterilisatorsysteme seien in folgendem angeführt:

Der neue Rohrbecksche Apparat ist eingerichtet für direkten oder indirekten Kesseldampf, sowie für direkte Feuerung. Der Apparat ermöglicht sowohl Dämpfen als Kochen des Fleisches. Ferner kann darin durch Auskochen nur der äußeren Schicht das Fleisch mit einem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gerinnungsmantel versehen und hierauf vollends durchgedämpft werden. Außerdem kann gleichzeitig ein Teil des Fleisches (z. B. eine bestimmte Fleischsorte) gedämpft, der andere gekocht werden. Endlich kann in dem Apparat wie in den übrigen noch zu beschreibenden Fett ausgeschmolzen werden.

Bei dem Fleischdämpfer von Ritschel & Henneberg „System Franke" kommt das Fleisch zunächst in siedendes Wasser, das dann sofort durch den im geschlossenen Apparat sich bildenden geringen Dampfdruck selbsttätig entfernt wird, bis auf einen, gerade den Boden bedeckenden Wasserrest, der zur weiteren Dampfentwickelung für die sodann folgende Dämpfung des Fleisches nötig ist. Dieses Verfahren hat zweierlei Zweck:

Einmal wird verhindert, daß sich in dem Apparat ein der Sterilisierwirkung hinderliches Dampfluftgemisch bildet.

Ferner wird durch das Verbringen des Fleisches in kochendes Wasser ersteres mit einem Gerinnungsmantel versehen, um ein Auslaugen des Fleisches durch Wasser und Dampf möglichst zu verhindern.

In Hinsicht auf die Gewinnung der Fleischbrühe weicht somit das Verfahren dieser beiden Apparate (beim Rohrbeckschen nicht notwendig, beim System Franke jedoch unter allen Umständen) von der Zubereitungsart des Normalfleischsaftes wesentlich ab, zuungunsten der Brühe. Wenn die Bildung eines starken Gerinnungsmantels gelingt, so kann natürlich von einer so vollständigen Extrahierung der löslichen Fleischbestandteile, wie sie beim sogenannten Kaltzusetzen möglich ist, keine Rede sein.

Die zwei Sterilisatoren Hartmanns neuer Fleischsterilisator Patent Becker & Ulmann und Hönnickes neuer Sterilisator: Fleischdämpfer II D.R.P. weisen Konstruktionsverschiedenheiten auf, welche auf die Behandlung des Fleisches hinsichtlich der Gewinnung der Fleischbrühe nicht von Einfluß zu sein scheinen. Es dürfte deshalb die Beschreibung des erstgenannten Hartmannschen Apparates genügen, der insofern weiteres Interesse beansprucht, als ein solcher auf dem Schlachthof in Stuttgart aufgestellt ist und sämtliche Versuche, die im folgenden zur Besprechung kommen, sich auf Fleischbrühe aus diesem Apparat beziehen.

Konstruktion: Der Sterilisator besteht aus einem schmiedeeisernen, liegenden Zylinder *a*, welcher vorn mit leicht verschließbarer Tür *b* und am unteren Teil mit dem Dampfheizmantel *c* versehen ist. Durch die Wand *d* (Fig. 2) ist der innere Raum, selbst bei geöffneter Tür, nach vorn begrenzt und dadurch ein muldenförmiger Behälter geschaffen, der von unten durch den Dampfheizmantel *c* mit der vom Dampfkessel kommenden Dampfzuleitung *e* geheizt wird.

Vom tiefsten Punkt des Innenraumes zweigt ein Rohr *f* nach dem seitlich aufgestellten Aufnahmegefäß ab. Ein Hahn *h* dient zur Entleerung des ganzen Apparates. Die aus perforiertem Eisenblech gefertigten verzinnten Fleischkörbe sind zur Aufnahme des zu sterilisierenden Fleisches bestimmt und lassen sich bequem auf seitlichen Leisten in den Apparat einschieben und herausnehmen. Das im Dampfmantel *c* kondensierte Wasser wird durch den automatischen Kondensableiter abgeschieden. Der Hahn *l* dient zur Entlüftung des Apparatinnern.

Betrieb: Nachdem der vorher bis zum Niveau *I* mit Wasser gefüllte Apparat mit dem zerlegten, gesalzenen und gewürzten Fleisch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

beschickt und der Deckel dampfdicht geschlossen ist, wird der Lufthahn *l* geöffnet und darauf durch das Ventil *e* der Dampfmantel *c* geheizt bezw. das über dem letzteren stehende Wasser zur Verdampfung gebracht. Nach genügender Entlüftung, d. h. von dem Moment ab, wo aus dem Hahn *l* reiner Dampf entströmt, wird der letztere geschlossen,

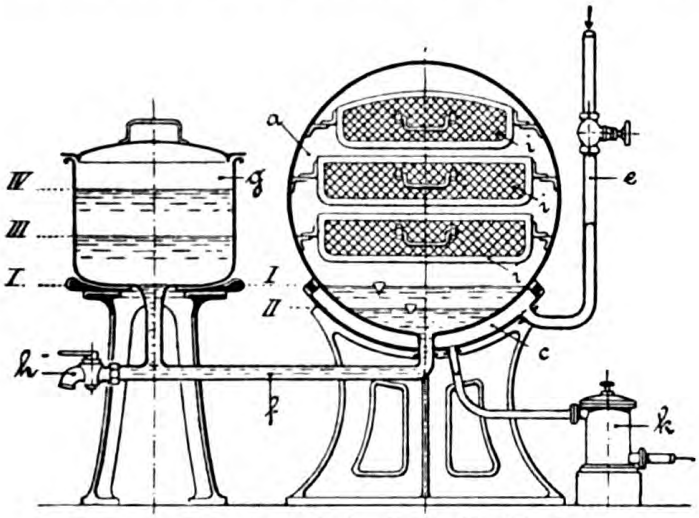


Fig. 1. Querschnitt durch die Mitte.

und das Fleisch steht alsdann unter der dauernden Einwirkung eines Dampfes von 100° C.

Durch die Kommunikation des Innenraumes mit dem sogenannten Aufnahmegefäß *g* wird bei Ueberdruck das Wasser teilweise in das letztere gedrückt, hierdurch die Heizfläche *c* weniger von Wasser bedeckt und in gleichem Maße eine Verringerung der Dampfheizung bewirkt, also damit selbsttätig das Gleichgewicht zwischen Dampferzeugung und Wärmeverbrauch des Fleisches ermöglicht.

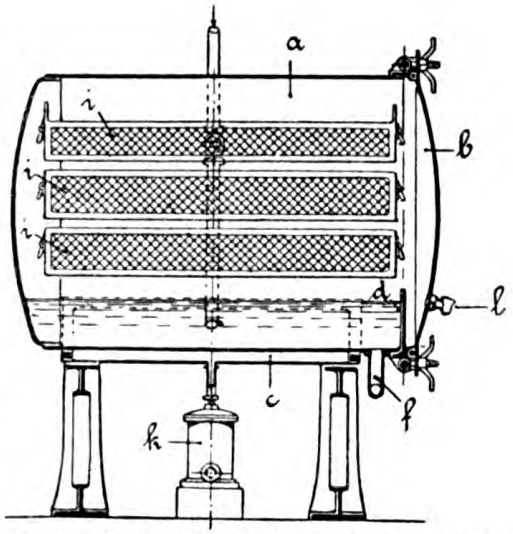


Fig. 2. Längsschnitt durch den Sterilisator.

Die Zeit bis zur vollständigen Sterilisation beträgt — bei sämtlichen aufgeführten Apparaten — im Durchschnitt ca. 2—2½ Stunden.

Nach Beendigung der Sterilisation wird das Dampfventil abgesperrt, der Apparat geöffnet und entleert und die Bouillon durch den Auslaufhahn abgezapft (5).

Ein Vergleich der üblichen Herstellung des Normalfleischsaftes mit der Gewinnung der Fleischbrühe im Sterilisator ergibt verschiedene Abweichungen.

Von dem vollbeschickten Apparat ausgehend, ist zunächst zu konstatieren, daß das Gewichtsverhältnis von Fleisch zu Wasser, das nach

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Loeffler 1:2 beträgt, im Sterilisator wesentlich zugunsten des Fleisches verschoben ist.

Es ist somit anzunehmen, daß man es bei der Sterilisatorbrühe für gewöhnlich mit einem wesentlich konzentrierteren Produkt zu tun hat. Die Konzentration wird allerdings durch den Umstand erheblichen Schwankungen unterworfen sein, daß ohne Rücksicht auf das Gewicht des zu sterilisierenden Fleisches der Apparat stets mit derselben Menge Wasser beschickt wird. Da der Anfall an bedingt tauglichem Fleisch in Schlachthöfen naturgemäß ein wechselnder ist und es aus betriebstechnischen Gründen besonders in der warmen Jahreszeit nicht immer angängig sein wird, daß so lange gewartet wird, bis das zur vollständigen Füllung des Apparates nötige Material beisammen ist, kann man auf ein gleichmäßiges Produkt für gewöhnlich nicht rechnen.

Dazu kommt noch, daß in vielen Fällen das tauglich zu machende Fleisch verschiedenen Tierarten entstammen wird. Dieser Umstand kann auf die Konzentration insofern von Einfluß sein, als das Fleisch verschiedener Tiere sich der Einwirkung des Sterilisatordampfes gegenüber verschieden verhält. Wie oben erwähnt, ist für das Rindfleisch 26 Proz., für Schweinefleisch ca. 12 Proz. Gewichtsverlust durch den Sterilisierungsprozeß im Hartmannschen Apparat festgestellt worden. Dieses Gewichtsdefizit an Fleisch dürfte zu der Konzentration der Fleischbrühe in direktem Verhältnis stehen.

Dafür, daß tatsächlich die Zusammensetzung der Fleischbrühe je nach der Menge des zur Beschickung des Sterilisators verwendeten Fleisches verschieden ist, haben, wie weiter unten gezeigt wird, nähere Untersuchungen den Nachweis geliefert.

Eine weitere Abweichung von der Zubereitung des Normalfleischsaftes ist darin zu erblicken, daß das Fleisch gewürzt und gesalzen dem Apparat einverleibt wird.

Dies ist deshalb für die Beurteilung der Fleischbrühe hinsichtlich ihrer Verwendung zu Nährböden von Bedeutung, weil der Gehalt des Fleischwassers an Mineralstoffen von größtem Einfluß auf seine Brauchbarkeit als Nährbodengrundlage zu sein scheint (6).

Vor Eintritt in nähere vergleichende Untersuchungen der zwei Flüssigkeiten — des Normalfleischsaftes und der Sterilisatorbrühe — war es wünschenswert, zunächst ein Bild der chemischen Zusammensetzung derselben zu bekommen, wenigstens das Verhältnis von Wasser zu Trockensubstanz und von organischen zu Mineralbestandteilen kennen zu lernen.

Während in der Literatur die Analysen der verschiedensten Fleischextraktpräparate vertreten sind, waren bezüglich des Fleischwassers analytische Angaben nicht zu finden.

Die einzige Notiz, die der chemischen Analysierung eines ähnlichen Präparates Erwähnung tut, bezieht sich auf den in den 70er Jahren in St. Petersburg im großen hergestellten und als Kräftigungsmittel in den Handel gebrachten „Succus carnis". Dieser Fleischsaft wurde durch Auspressen von zerkleinertem und von Fett möglichst befreitem Muskelfleisch unter hydraulischem Druck dargestellt und gelangte frisch in die Hände der Konsumenten.

Er bildete nach Martenson (7) eine klare Flüssigkeit von frischroter Farbe, zeigte saure Reaktion und ein spezifisches Gewicht von 1,031—1,037.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beim Kochen erstarrte der Saft zu einem nicht mehr gießbaren Koagulum. Die Gerinnung begann schon bei 45° C, bei 50° war sie schon stark grobflockig.

In 100 ccm dieses Saftes wurden ermittelt:

Organische Substanz	6,12 g
Mineralsubstanz	1,04 „
Wasser	92,84 „

Von diesen 6,12 Proz. organischer Substanz waren im Mittel:

Albumin	3,86 Proz.
Zucker	0,30 „
Leim, Kreatin etc.	1,96 „

Von den 1,04 Proz. Mineralbestandteilen entfielen auf Phosphorsäure 0,064 Proz., wohl als Kalium und Calciumsalz.

Wie aus der Beschreibung der Zubereitungsart zu ersehen ist, hat man es in dem vorliegenden mit einem Präparat zu tun, das mit dem Normalfleischsaft viel Aehnlichkeit hat.

Das Auspressen unter höherem Druck, sowie der Umstand, daß in dem Saft die Eiweißmenge ganz enthalten ist, die bei der Sterilisierung des Normalsaftes durch Kochen jedenfalls ausfällt und verloren geht, weist darauf hin, daß die Analyse des letzteren Präparates geringere Werte bezüglich der festen Bestandteile ergeben muß. Dies wurde auch bestätigt durch folgende Untersuchungen, die im Institut vorgenommen wurden.

Von fertig bereitetem Normalfleischsaft, dem noch kein Pepton und NaCl zugesetzt, der aber nach dem Kochen filtriert worden war, wurde nach der Austrocknungsmethode (8) die Trockensubstanz sowie in einigen Fällen der Gehalt an Mineral- und organischen Bestandteilen festgestellt.

Bei einem aus Rindfleisch hergestellten Normalfleischwasser ergab sich bei einem spez. Gewicht von 1005: Trockensubstanz 1,26 Proz.

Eine andere Probe Rindfleischnormalsaft ergab:

Spezifisches Gewicht	1005
Wasser	98,61 Proz.
Trockensubstanz	1,39 „
davon organische	1,03 „
Mineralsubstanz	0,36 „

Ein aus reinem Schweinefleisch hergestellter Normalfleischsaft enthielt bei einem spez. Gewicht von 1006:

Wasser	98,41 Proz.
Trockensubstanz	1,59 „
davon organische	1,18 „
Mineralsubstanz	0,41 „

Ueber die sonstige Beschaffenheit des Normalfleischwassers ist zu bemerken, daß dasselbe vor dem Filtrieren eine undurchsichtige, trübe, nach dem Filtrieren eine klare, vollständig durchsichtige, verschieden gelb nüancierte Flüssigkeit mit angenehmem Bouillongeruch und von saurer Reaktion darstellt.

Die Sterilisatorbrühe, die bei den folgenden Versuchen zur Verwendung kam, wurde jeweils nach Materialanfall vom Stuttgarter Schlachthof direkt vom Sterilisator abgefüllt und in einem mit Gummistopfen verschlossenen Glasgefäß ins Laboratorium verbracht.

Möglichst im Anschluß hieran wurde zunächst festgestellt:

1) Aussehen, 2) Geruch, 3) Reaktion, 4) spezifisches Gewicht; zuerst unfiltriert, dann filtriert. Soweit möglich, wurde jedesmal festgestellt,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in welchem Gewichtsverhältnis die einzelnen Fleischsorten im Apparat enthalten waren.

Zur Untersuchung gelangten folgende Proben:

I. Gemisch von 102 kg Rind-, 19 kg Kalb- und 41 kg Schweinefleisch.

1) Aussehen: Trübe, undurchsichtige, dunkelbraune Flüssigkeit. Auf der Oberfläche befindet sich eine ca. $1^1/_2$ cm dicke Schicht erstarrten Fettes. In der Flüssigkeit ist reichlich Fett in Form kleinster Kügelchen suspendiert.
2) Geruch: Intensiver Bouillongeruch.
3) Reaktion: Schwach sauer.
4) Spezifisches Gewicht: Bei 15° C unfiltriert 1015; 1mal filtriert 1015.

Nach dem einmaligen Filtrieren wird die Farbe bedeutend heller, die Flüssigkeit ziemlich durchsichtig. Durch mehrmaliges Filtrieren wird ohne Anwendung von Aufhellungsmitteln vollständiges Klarsein erzielt.

II. Brühe aus 197 kg Ochsenfleisch.

1) Aussehen: Tiefgelb, trüb, vollständig undurchsichtig, an der Oberfläche eine ca. $1^1/_2$ cm starke Fettschicht.
2) Geruch: Nach sehr konzentrierter Fleischbrühe.
3) Reaktion: Schwach sauer.
4) Spezifisches Gewicht: 1015; nach Filtrieren 1015.

III. Brühe aus 52 kg Schweine- und 38 kg Kuhfleisch.

1) Aussehen: Hellgelb, undurchsichtig, mit reichlicher Fettschicht.
2) Geruch: Ausgesprochener Geruch nach Schweinefleisch.
3) Reaktion: Neutral.
4) Spezifisches Gewicht: 1008; filtriert 1006.

IV. Brühe aus 189 kg Rindfleisch.

1) Aussehen: Dunkelgelb, undurchsichtig, geringe Fettschicht.
2) Geruch: Nach sehr konzentrierter Bouillon.
3) Reaktion: Schwach sauer.
4) Spezifisches Gewicht: 1015; filtriert 1015.

V. Brühe aus 150 kg Rind- und 15 kg Schweinefleisch.

1) Aussehen: Honiggelb, undurchsichtig, mäßige Fettschicht.
2) Geruch: Nach konzentrierter Bouillon.
3) Reaktion: Sauer.
4) Spezifisches Gewicht: 1015; filtriert 1015.

VI. Brühe aus reinem Schweinefleisch.

1) Aussehen: Hellgelb, opak, breite Fettschicht.
2) Geruch: Nach Schweinefleisch.
3) Reaktion: Sauer.
4) Spezifisches Gewicht: 1011; nach Filtrieren 1010,5.

VII. Brühe aus 140 kg Rindfleisch.

1) Aussehen: Hellgelb, undurchsichtig, geringe Fettschicht.
2) Geruch: Nach konzentrierter Fleischbrühe.
3) Reaktion: Schwach sauer.
4) Spezifisches Gewicht: 1011; nach Filtrieren 1011.

VIII. Brühe aus 50 kg Rind-, 25 kg Schweine- und 10 kg Kalbfleisch.

1) Aussehen: Tiefgelb, undurchsichtig, mäßige Fettschicht.
2) Geruch: Starker Bouillongeruch.
3) Reaktion: Sauer.
4) Spezifisches Gewicht: 1010; nach Filtrieren 1010.

IX. Brühe aus 172 kg Rind- und 20,5 kg Schweinefleisch.

1) Aussehen: Sattgelb, undurchsichtig, mäßige Fettschicht.
2) Geruch: Nach konzentrierter Bouillon.
3) Reaktion: Sauer.
4) Spezifisches Gewicht: 1010; nach Filtrieren 1010.

Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

X. Brühe aus 100 kg Rind- und 50 kg Schweinefleisch.

1) Aussehen: Undurchsichtig, mäßige Fettschicht, hellgelb.
2) Geruch: Nach konzentrierter Fleischbrühe.
3) Reaktion: Sauer.
4) Spezifisches Gewicht: 1015; filtriert 1013.

Bei sämtlichen zur weiteren Verarbeitung gekommenen Proben von Sterilisatorbrühe ergab sich, daß durch mehrmaliges Filtrieren allein ohne Anwendung von Klärungsmitteln vollständige Klärung sich erzielen ließ. Die fertige Bouillon stand an Durchsichtigkeit der Normalbouillon nicht nach. Eine Verschiedenheit bestand lediglich in der Farbe, die bei Sterilisatorbouillon aus vorwiegend Rindfleisch dunkler gelb, aus vorwiegend Schweinefleisch heller gelb erschien.

Die Trockensubstanzbestimmungen bei Sterilisatorbrühe ergaben folgende Resultate:

Bei Brühe No. III (aus 90 kg Fleisch):		
	Wassergehalt	98,23 Proz.
	Trockensubstanz	1,77 „
Bei Brühe No. VII (aus 140 kg Fleisch):		
	Wassergehalt	97,24 Proz.
	Trockensubstanz	2,76 „
Bei Brühe No. IV (aus 189 kg Fleisch):		
	Wassergehalt	96,32 Proz.
	Trockensubstanz	3,68 „
	davon organische	2,875 „
	Mineralsubstanz	0,815 „
Bei Brühe No. V (aus 165 kg Fleisch):		
	Wassergehalt	96,55 Proz.
	Trockensubstanz	3,45 „
	davon organische	2,70 „
	Mineralsubstanz	0,75 „

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß man bei der Sterilisatorfleischbrühe mit ziemlich großen Schwankungen im Verhältnis von Trockensubstanz zu Wasser zu rechnen hat. Während bei der aus der größten Menge Fleisch (189 kg) gewonnenen Brühe No. IV eine über $2\,^1/_2$-fache Konzentration gegen Normalfleischsaft ermittelt wurde, war bei der aus nur 90 kg Fleisch bereiteten Brühe No. III nur 1,77 Proz. Trockensubstanz gegen 1,39 Proz. des Normalfleischsaftes zu verzeichnen.

Ein ebenso wechselndes Bild gibt das Verhältnis von organischer Substanz zu Mineralstoffen.

Immerhin wird man annehmen dürfen, daß in den Schlachthöfen die Größenverhältnisse der Sterilisatoren dem durchschnittlichen Bedarf angepaßt sind und somit im allgemeinen die Beschickung der Apparate eine annähernd vollständige sein wird.

Die für gewöhnlich zur Verfügung stehende Sterilisatorbrühe wird deshalb eine erheblich stärkere Konzentration aufweisen als die Normalbouillon.

Um das Verhalten der Sterilisatorbrühe als Nährbodengrundlage in möglichst verschiedener Richtung kennen zu lernen, wurde der Versuchsplan in folgender Weise angelegt:

Bei der Herstellung sämtlicher Nährböden fand die Sterilisatorbrühe in der Weise Verwendung, daß sie als Ersatz für das Fleischwasser verarbeitet wurde.

Aus der durch Filtrieren vollständig geklärten Brühe wurde nach Zusatz von Pepton und NaCl in der üblichen Weise Bouillon zubereitet, aus welch letzterer dann, wie üblich, Gelatine, Agar etc. bereitet wurde.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zunächst kam die Brühe in ganz unverändertem Zustand zur Verwendung. Sodann wurde dieselbe vor der Verarbeitung zu Bouillon mit gleichen Teilen Wasser, hierauf mit 2 Teilen Wasser verdünnt. Endlich wurden 2 Teile Brühe mit 1 Teil Wasser und zuletzt 3 Teile Brühe mit 1 Teil Wasser versetzt.

Wie oben hervorgehoben, sollte die Brauchbarkeit der Sterilisatorbrühe vorwiegend in Hinsicht auf solche Nährböden geprüft werden, wie sie für die bakteriologische Tätigkeit im Schlachthauslaboratorium benötigt werden. Demgemäß wurde auch für die einfachen Nährböden die Auswahl der zur Aussaat gebrachten Bakterien getroffen.

Zur Verarbeitung gelangten durchweg auf ihr ungeschädigtes Wachstum geprüfte Kulturen von Milzbrand, Schweinerotlauf, Bac. enteritidis Gärtner, Bac. paratyphi B, Bact. coli commune.

Außerdem kamen zur vergleichsweisen Prüfung der Wachstumsbedingungen im allgemeinen Bac. pyocyaneus und Streptococcus citreus zur Verwendung.

Jeder Versuchsreihe lief ein Kontrollversuch mit lege artis zubereitetem Normalnährboden parallel.

Die Beschickung der Nährböden mit den betreffenden Bakterien geschah für gewöhnlich in der Weise, daß von einer 24-stündigen Bouillonkultur jedem Nährboden genau dieselbe Menge, und zwar anfangs eine Normalöse durch gutes Vermischen im Reagenzglas möglichst gleichmäßig verteilt einverleibt wurde.

Dieses Quantum erwies sich bald als zu groß, indem die große Zahl der aufgegangenen Kolonieen das Zählen derselben teilweise unmöglich machte. Es wurde deshalb eine Normalöse des Bakterienmaterials zunächst in einem Kubikzentimeter steriler Bouillon verdünnt und hiervon eine Normalöse verimpft.

Abweichungen von dieser Technik werden bei den einzelnen Versuchen jeweils besonders angegeben.

Die Besichtigung und Prüfung der Nährböden erfolgte meist nach 24 Stunden. Agarnährböden wurden während dieser Zeit im Brutschrank bei 37° C, Gelatine bei Zimmertemperatur gehalten.

Die Zählung der Kolonieen beim Plattenverfahren erfolgte zum Teil nach dem mikroskopischen Verfahren (30 Gesichtsfelder), wobei ein Mikroskop mit einem Gesichtsfeld von 2,5 mm Durchmesser und 56-facher Vergrößerung Verwendung fand.

Zum Teil konnten die Kolonieen makroskopisch mit dem Wolfhügelschen Apparat gezählt werden.

Der Uebersichtlichkeit halber wird das Ergebnis der Versuche in Tabellenform aufgeführt. In den Tabellen sind Durchschnittszahlen angegeben.

Der I. Versuch beschäftigte sich mit Bouillon.

	Normalbouillon	Sterilisatorbouillon	Bemerkungen
Milzbrand	Gutes, typisches Wachstum.	Wachstum deutlich geringer.	Aus Sterilisatorbrühe No. I hergestellt.
Gärtner	Gutes, typisches Wachstum.	Gutes Wachstum mit Häutchenbildung. Bodensatz stärker als bei normal.	
Coli	Gutes, typisches Wachstum mit starkem Bodensatz.	Wachstum schwächer, namentlich Bodensatz geringer als bei normal.	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Versuch mit Gelatinestichkultur.

	Normalgelatine	Sterilisatorgelatine	Bemerkungen
Milzbrand	Wachstum gut. Dicker weißer Faden. Seitenfortsätze fehlen. Beginnende schalenförmige Verflüssigung.	Tiefenwachstum geringer. Verflüssigung etwas weiter fortgeschritten.	Aus Brühe No. I hergestellt.
Gärtner	Typisches Wachstum.	Kein nennenswerter Unterschied.	
Coli	Typisches Wachstum, Fäden sehr schwach im Durchmesser. Oberflächenwachstum.	Fäden entschieden üppiger. Oberflächenwachstum etwas geringer.	

III. Versuch mit Gelatineplatten.

Gärtner	93 Kolonieen vereinzelt u. in dünnen Fäden.	1106 Kolonieen in dicken, zahlreichen Fäden angeordnet, mit bis zu 6 mm Breite.	Aus Brühe No. I hergestellt.
Coli	88 Kolonieen.	Ca. 18—20 000 sehr deutliche, bedeutend stärker entwickelte Kolonieen	

IV. Versuch mit Agarplatten.

	Normalagar	Sterilisatoragar	Bemerkungen
Pyocyaneus	Gleichmäßig dicht besät. Zählen nicht möglich.	Wachstum in dicken Strängen, die den dicht besäten Nährboden durchziehen. Wachstum ganz bedeutend üppiger. Kolonieen stärker entwickelt.	Aus Brühe No. II hergestellt.
Streptococcus citreus	Sehr geringes Wachstum.	Ueppiges Wachstum.	
Coli	125 715 Kolonieen.	256 650 Kolonieen.	
Gärtner	199 410 Kolonieen.	Zählen nicht mehr möglich, einzelne Kolonieen bedeutend größer, Wachstum üppiger als bei normal.	

V. Versuch mit Gelatineplatten aus Sterilisatorbrühe No. III.

Da ein Zählen der Kolonieen nicht möglich war, wurden die allgemein ins Auge fallenden Unterscheidungsmerkmale festgestellt.

Beschickt wurden die Platten mit Gärtner und Coli. Bei beiden Bakterienarten war gegen die Normalnährböden ein Unterschied bezüglich des typischen Wachstums nicht zu konstatieren.

Dagegen war ohne weiteres auffallend, daß auf dem Sterilisatornährboden bei beiden Bakterienarten das Wachstum ein ganz wesentlich üppigeres war, ganz besonders bei Gärtner.

Um exaktere zahlenmäßige Anhaltspunkte zu bekommen, wurde bei der nächsten Versuchsreihe das Bakterienmaterial verdünnt (auf 1 ccm sterile Bouillon 1 Normalöse 24-stündiger Kultur, davon 1 Normalöse pro Platte) zur Verimpfung gebracht.

Zur Verimpfung gelangten: Bac. enteritidis Gärtner, Bact. coli, Bac. paratyphi, Pyocyaneus.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

VI. Versuch.

	Normalagar	Sterilisatoragar	Bemerkungen
Gärtner	1344 im Agar verteilte Tiefenkolonieen, dazu 193 Oberflächenkolonieen, die in der Mitte der Platte flächenartig zusammenfließen.	1554 Tiefen-, dazu 102 einzelne Oberflächenkolonieen, in der Mitte der Platte ein Rasen mit üppigem Wachstum von ca. 3 cm Durchmesser.	Aus Sterilisatorbrühe No. II.
Coli	518 Tiefenkolonieen, kein Oberflächenwachstum.	1176 Tiefen-, dazu 64 einzelne Oberflächenkolonieen. In der Mitte der Platte kleiner Rasen.	
Paratyphus	859 Tiefen-, dazu 138 Oberflächenkolonieen, nur wenig konfluierend.	1469 Tiefen-, 90 Oberflächenkolonieen (einzeln), starker Rasen.	
Pyocyaneus	45 mäßig entwickelte Kolonieen.	445 sehr gut entwickelte Kolonieen.	

Ein weiterer Versuch ergab folgende Werte:

VII. Versuch.

	Normalagar	Sterilisatoragar	Bemerkungen
Pyocyaneus	483 Kolonieen.	1040 Kolonieen.	Aus Sterilisatorbrühe No. V.
Paratyphus	1481 Tiefenkolonieen, 144 Oberflächenkolonieen, ganz geringer Rasen.	2210 Tiefen-, 82 Einzel-Oberflächenkolonieen, ganze Mitte der Platte ein üppiger Rasen.	
Gärtner	1234 Tiefen-, 81 Oberflächenkolonieen, in der Mitte der Platte wenig konfluierend.	961 Tiefen-, 190 Oberflächenkolonieen, Mitte der Platte ein üppiger Rasen (5 cm Durchmesser).	

Für den nächsten Versuch wurde aus reiner Schweinefleischsterilisatorbrühe Agar 2-proz. (wie gewöhnlich) von unverdünnter Brühe und von solcher, die mit den gleichen Teilen Wasser verdünnt war, hergestellt.

Außerdem wurde auf dieselbe Weise — unverdünnt und verdünnt — 4-proz. Agar bereitet, um das Verhalten der Sterilisatorbrühe auch in höherer Agarkonzentration kennen zu lernen. Gerade Brühe von reinem Schweinefleisch wurde hierzu verwendet, weil im Institut schon einmal bei Agar solcher Herkunft eine Abweichung von der für andere Agarnährböden geltenden Erstarrungstemperatur beobachtet worden war.

Die Versuche wurden zunächst durchgeführt mit Gärtner, Paratyphus, Coli; später mit Milzbrand (s. Versuch No. VIII—XII).

Ein weiterer Versuch wurde mit Agar in der Verdünnung von 3 Teilen Brühe zu 1 Teil Wasser angestellt und zwar mit Coli, Paratyphus und einer Mischung beider Bakterien. Bei diesem Versuch wurden die Bakterien in Form von Strichkulturen auf Platten zur Aussaat gebracht, in der Weise, daß eine Normalöse Kultur in einzelnen Strichen auf die Oberfläche aufgetragen wurde. Eine Mischung beider Bakterien auf einer Platte wurde derart bewerkstelligt, daß je eine Normalöse jeder Kultur auf die Platte aufgetragen und sodann mit dem rechtwinklig

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

abgebogenen, gläsernen Drigalski-Spatel intensiv auf der ganzen Oberfläche der Platte miteinander vermischt wurde (s. Versuch No. XIII).

Normal-Fleischwasser-agar	Agar aus Sterilisatorbrühe 2-proz.	Agar aus Sterilisatorbrühe 4-proz.	Agar aus Sterilisatorbrühe verdünnt 1:1 H_2O 2-proz.	Agar aus Sterilisatorbrühe verdünnt 1:1 H_2O 4-proz.
Versuch No. VIII mit Bact. coli.				
719 Tiefenkolonieen, gutes Wachstum; 144 Oberflächenkolonieen, diese nirgends konfluier., größte 2 mm im Durchmesser. Farbe d. Nährbodens: nahezu farblos, ganz schwachgelbl.	1422 Tiefenkolonieen, die einzeln sehr gut gewachsen und deutlich sichtbar sind. 47 Einzeloberfläch.-Kol. bis zu 1,5 mm im Durchmesser, üppiger Rasen 7:4,5 cm im Dm.[1]). Farbe des Nährbodens: hellgelb.	986 Tiefen-, 138 Oberflächenkol. bis 4 mm Dm., Rasen 5,5:5 cm. Farbe: sattes Gelb.	681 Tiefen-, 50 Oberflächenkol. bis zu 6 mm Dm., üppiger Rasen 7:8,5 cm Dm. Farbe: nahezu farblos, ganz schwacher gelblicher Stich.	1002 Tiefen-, 165 Oberflächenkol. bis zu 5 mm Dm., Rasen 7:7,5 cm. Farbe: deutlich gelb.
Versuch No. IX mit Bac. enteritidis Gärtner.				
1148 Tiefen-, 105 Oberflächenkol. bis zu 2 mm Dm., schwacher Rasen in der Mitte d. Platte.	1366 Tiefen-, 125 Oberflächenkol. bis 4 mm Dm., starker, üppiger Rasen.	967 Tiefen-, 111 Oberflächenkol. bis zu 3 mm Dm., starker Rasen, 4:6 cm Dm.	1072 Tiefen-, 104 Oberflächenkol. bis zu 3 mm Dm., Rasen 5:4 cm Dm.	1281 Tiefen-, 171 Oberflächenkol. bis zu 4 mm Dm., kein zusammenhängender Rasen, mehrere kleine von 1:1 cm Dm.
Versuch No. X mit Paratyphus.				
335 Tiefen-, 45 Oberflächenkol. bis zu 3 mm Durchm., Rasen 4:4,5 cm Dm.	89 Tiefen-, 246 Oberflächenkol. bis zu 2,5 mm Dm., ganz. Platte mit schleierähnlichem Rasen bedeckt.	295 Tiefen-, 130 Oberflächenkol. bis zu 2,5 mm Dm., eigentlicher Rasen nicht vorhanden.	265 Tiefen-, 26 Oberflächenkol. bis zu 4 mm Dm., sehr üppiger Rasen von 2:3,5 cm Dm.	227 Tiefen-, 40 Oberflächenkol. bis zu 3,5 mm Dm. zu schleierartigem, sehr dünnem Rasen konfluierend.
Weiterer Versuch No. XI mit Paratyphus.				
379 Tiefen-, 125 Oberflächenkol. bis zu 2,5 mm Dm., kein Rasen.	572 Tiefen-, 17 Oberflächenkol. noch zählbar, alles übrige zu einem die ganze Platte bedeckenden Rasen zusammengefloss.	424 Tiefen-, 51 Oberflächenkol. bis zu 3 mm Dm., Rasen 7:3,5 cm Dm.	430 Tiefen-, 80 Oberflächenkol. kein Rasen, Einzelkolonieen bis zu 5 mm im Dm.	413 Tiefen-, 226 Oberflächenkol. über die ganze Platte verteilter, ganz dünner schleierähnlicher Rasen.
Versuch No. XII mit Milzbrand.				
10 deutl. typisch gewachsene, schwache Kolonieen.	184 bis 2,5 mm breite, sehr stark entwickelte typische Kolonieen	kein Wachstum	Platte ganz übersät mit typischen Kolonieen von ca. $1^1/_2$ mm Dm., die miteinander verfilzen.	kein Wachstum.

1) Dm. bedeutet Durchmesser.

Anmerkung: Für Versuch VIII—XII wurde der Nährboden aus Sterilisatorbrühe No. VI hergestellt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch No. XIII.

	Normalagar	Agar aus Sterilisatorbrühe 3 : 1 H_2O verdünnt	Bemerkungen
Coli	Einzelstriche sehr gut gewachsen. Kein Rasen.	Aeußerst üppiger, über die ganze Platte verbreiteter Rasen.	Aus Sterilisatorbrühe No. X hergestellt.
Paratyphus	Einzelstriche deutl., durch schwachen Rasen verbunden.	Einzelstriche verwischt, sehr üppiger, über die ganze Platte verteilter Rasen.	
Mischung	Schwacher Rasen über die ganze Platte.	Sehr üppiger Rasen über die ganze Platte.	

Bei Versuch No. XIV wurden Gelatinestichkulturen mit Schweinerotlauf angelegt. Hierbei konnten gegenüber Normalgelatine Abweichungen bei Sterilisatorgelatine (unverdünnt) nicht beobachtet werden.

Eine kritische Durchsicht der 14 Versuche führt zu dem Ergebnis, daß in Sterilisatorbouillon der Gärtner-Bacillus ein etwas besseres Wachstum erkennen ließ, als in Normalbouillon, während bei Milzbrand und Coli das Wachstum geringgradig beeinträchtigt erschien.

In Gelatinestich war bei Gärtner und Rotlauf ein wesentlicher Unterschied nicht zu beobachten, bei Milzbrand war aber zu konstatieren, daß das Oberflächenwachstum (d. h. die Verflüssigung) besser, das Tiefenwachstum geringer war, als bei Normalgelatine. Beim Gelatineplattenverfahren war auf Sterilisatorplatten durchweg ein wesentlich üppigeres Wachstum festzustellen als auf Normalgelatine.

Bei den Versuchen mit Agar ist in die Augen springend, daß bei den Sterilisatornährböden eine erhebliche Steigerung des Wachstums mit stark ausgeprägter Neigung zu Oberflächenwachstum bei Gärtner, Coli, Paratyphus und Pyocyaneus vorliegt.

Die Versuche mit Verdünnungen ergaben, daß dem Bact. coli unverdünnter Sterilisatoragar am besten zusagt, während bei Gärtner und Paratyphus wesentliche Wachstumsunterschiede zwischen verdünnten und unverdünnten Sterilisatornährböden nicht zu verzeichnen sind.

Zwischen 2- und 4-proz. Sterilisatoragar sind aus den Versuchen erhebliche Unterschiede nicht zu ersehen, mit Ausnahme des Milzbrandes, der eine ausgesprochene Abneigung gegen den höherprozentigen Agar zu erkennen gab.

Nachdem hiermit im wesentlichen die Beeinflussung des Wachstums der hier in Betracht kommenden Bakterien in einfachen Nährböden durch Verwendung von Sterilisatorbrühe kennen gelernt war, konnte zu den weiteren Untersuchungen mit differenzierenden Nährböden geschritten werden.

Die Herstellung dieser Nährböden geschah genau nach Vorschrift, unter Verwendung von Sterilisatorbrühe an Stelle des Fleischwassers.

Bei Untersuchung der Platten wurde das Hauptaugenmerk auf etwaige Veränderungen der spezifischen Eigenschaften der Nährböden, besonders der Farbenreaktion gerichtet.

Die ersten Versuche beschäftigten sich mit Lackmusmilchzuckeragar nach von Drigalski und Conradi.

Der fertige unbeschickte Nährboden unterschied sich in seinem Aussehen nicht von Normal-Drigalski.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei Versuch XV wurde Drigalski-Agar zu Platten gegossen, der mit je einer Normalöse einer 24-stündigen Coli- bezw. Gärtner-Kultur vermischt worden war.

Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank ergab die Besichtigung der Platten bei beiden Bakterienarten ein so üppiges Wachstum, daß von einem Zählen der Kolonieen abgesehen werden mußte.

Bei den mit Gärtner beschickten Platten war zu beobachten, daß die Sterilisatorplatten ganz wesentlich üppiger bewachsen waren, als Normalplatten. Eine Abweichung in der Farbenreaktion war nicht zu konstatieren.

Der ganze Nährboden war blaugefärbt, die Kolonieen selbst zeigten ein etwas intensiveres Blau.

Bei Coli war der Unterschied im Wachstum nicht wesentlich, die Färbung von Nährboden und Kolonieen wich vom Normalnährboden nicht ab, indem bei beiden eine ausgesprochene Rotfärbung vorlag.

Bei Versuch XVI wurden die Platten nur mit verdünnter Kultur beschickt (eine Normalöse auf 1 ccm Bouillon, davon eine Normalöse pro Platte).

Das Ergebnis war:

Versuch No. XVI.

	Normal-Drigalski	Sterilisator-Drigalski	Bemerkungen
Gärtner	58 Tiefenkolon., 66 Oberflächenkolonieen.	728 Tiefenkolonieen, 118 Oberflächenkolonieen, letztere bedeutend stärker entwickelt als bei Normal, wenig konfluier.	Aus Brühe II hergestellt.
Coli	172 Tiefenkolonieen, 85 gut entwickelte Oberflächenkolonieen.	511 Tiefenkolonieen, 38 Oberflächenkolonieen (einzeln) und Rasen quer durch die Platten bis zu 2 cm breit.	

Eine weitere Versuchsreihe XVII ergab:

Versuch No. XVII.

	Normal-Drigalski	Sterilisator-Drigalski	Bemerkungen
Gärtner	1234 Tiefenkolonieen, 81 Oberflächenkolonieen, in der Mitte der Platte wenig konfluierend.	1107 Tiefenkolonieen, 190 Oberflächenkolon. (einzeln), ganze Mitte der Platte nimmt ein Rasen von 5 cm Dm. mit üppigem Wachstum ein.	Aus Brühe No. II hergestellt.
Coli	1075 Tiefenkol., mäßiges Oberflächenwachstum.	1475 Tiefenkolonieen, sehr üppiges Oberflächenwachstum.	

Ein weiterer Versuch XVIII beschäftigte sich mit dem Wachstum des Bac. enteritidis Gärtner in unverdünntem und 1:1 H_2O verdünntem Sterilisator-Drigalski.

Normal-Drigalski	Sterilisator-Drigalski unverdünnt	Sterilisator-Drigalski verdünnt 1:1 H_2O	Bemerkungen
6065 Tiefenkolon., sehr klein, gar kein Rasen, zahlreiche mäßig entwickelte Oberflächenkolonieen.	7798 Tiefenkolon. etwas kräftiger entwickelt, Oberflächenwachstum in Form eines flachen Rasens mit 5,4 cm Dm.	6209 Tiefenkol., starkes Oberflächenwachst. in Form eines flachen Rasens mit 4,3 cm Dm., zahlreiche, kräft. Einzelkolonieen.	Farbe des Nährbodens und der Kolonieen bei allen 3 gleich. Aus Brühe No. VII hergestellt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

paratyphi verwendet.

Versuch No. XIX.

	Normal-Drigalski	Sterilisator-Drigalski unverdünnt aus Brühe No. VII	Sterilisator-Drigalski verdünnt 1 : 1 H_2O aus Brühe No. VII
Paratyphus	203 Tiefenkolonieen, 25 Oberflächenkolonieen, kein Rasen. Farbe: Nährboden blau, Kolonieen graublau.	225 Tiefenkolonieen, 47 Oberflächenkol., Rasen 4,5 : 2,6 cm. Farbe: wie bei Normal.	294 Tiefenkolonieen 15 Oberflächenkolon., kein Rasen. Farbe: wie bei Normal.
Coli	150 Tiefenkolonieen, 43 Oberflächenkolonieen, Rasen 6,8 : 4,5 cm. Farbe: Nährboden deutlich gerötet, Kolonieen intensiv rot.	252 Tiefenkolonieen, 13 Oberflächenkol., Rasen 5,8 : 4,1 cm. Farbe: Nährboden schwach, Kolon. deutlich rot.	305 Tiefenkolonieen, 55 Oberflächenkolon., kein Rasen. Farbe: Platte kaum gerötet (blaurötlich), Kolonieen schwach rot.

Beim nächsten Versuch wurden nur Normal- und verdünnter Sterilisator-Drigalski einander gegenübergestellt.

Versuch No. XX.

	Normal-Drigalski	Sterilisator-Drigalski verdünnt 1 : 1 H_2O	Bemerkungen
Paratyphus	196 Tiefenkolon., 73 Oberflächenkolonieen, Rasen 6,7 : 5 cm, flach. Farbe: Nährbod. gleichmäßig graublau, Oberflächenkolonieen deutlich bläulichgrau.	498 Tiefenkolon., 51 Oberflächenkolonieen, Rasen 3,5 : 3,8 cm. Farbe: Nährboden wesentlich dunkler blau, Oberflächenkolonieen blau-grau mit dunklerem Zentrum.	Aus Brühe No. VII hergestellt.
Coli	449 Tiefenkolon., 79 Oberflächenkolonieen, Rasen 6,3 : 5,5 cm. Farbe: Nährbod. schwach gerötet, einzelne Kolonieen graurot.	452 Tiefenkolon., 74 Oberflächenkolonieen, Rasen 2 : 0,9 cm. Farbe: Nährboden dunkler als bei Normal, Oberflächenkolonieen viel stärker entwickelt, graurot mit tiefrotem Zentrum.	

Um den natürlichen Verhältnissen bei der bakteriologischen Fleischbeschau möglichst nahe zu kommen, wurden Mischinfektionen in der Weise hergestellt, daß je eine Normalöse einer 24-stündigen Bouillonkultur von Paratyphus und dieselbe Menge von Bact. coli in 2 ccm steriler Bouillon gut gemischt und davon auf jede Platte eine Normalöse durch Vermischen im Reagenzglas ausgesät wurde.

Das Resultat der Versuche ist in Tabelle XXI und XXII niedergelegt. Zur Verwendung kam bei beiden Versuchen Brühe No. VII.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nährboden ganz schwach violett gefärbt. Paratyphus: Oberflächenkolon. besonders bei durchfallendem Licht deutl. hellblaugrau. Tiefenkolon. von gleicher Farbe sehr klein. Coli: Oberflächenkolon. gut entwickelt, graurot, mäßige Bildung eines flachen Rasens. Tiefenkolonieen deutlich rot, kräftiger Rasen (bläulich und rötlich).	Nährboden etwas dunkler gefärbt. Paratyphus: Oberflächenkolonieen bei durchfallendem Licht wie bei Normal, nur nicht so deutlich blau. Tiefenkolonieen deutlicher. Coli: Oberflächenkolon. gut entwickelt, graurot. Tiefenkolon. sich deutlich abhebend, als dunkelrote Punkte, kräftiger Rasen von Coli und Paratyphus, Gesamtwachstum bedeutend stärker als bei Normal.	Nährboden etwas heller gefärbt als Normal. Paratyphus und Coli: Oberflächenwachst. wesentlich geringer als bei unverdünnt, Bildung einiger nicht großer rötlichgrauer Coli-Rasen und eines großen (4:3 cm) blaugrauen Paratyphus-Rasens. Tiefenkol. weniger deutlich, Gesamtwachstum geringer als bei unverdünnt.

Versuch No. XXII.

Farbe der 3 Nährböden nahezu gleich, Sterilisator unverdünnt, etwas dunkler.

Paratyphus: Kolon. deutlich graublau. Coli: Kolonieen deutlich graurot.	Paratyphus: Kolon. graublau. Coli: Kolonieen dunkelrot. Bei beiden Bakterienarten Wachstum einzelner Kolonieen wesentlich im Hintergrund gegen Rasenbildung.	Paratyphus: Kolon. deutlich graublau. Coli: starkes Flächenwachst. Farbe deutlich rot, Farbenunterschiede deutlicher als bei unverdünnt.

Bei Versuch XXIII wurde eine Serie Platten gegossen aus unverdünnter und verdünnter Sterilisatorbrühe, und zwar in der Verdünnung von 1:2 H_2O. Die Bakterienaussaat geschah in derselben Weise wie bei den vorhergehenden Versuchen.

Versuch No. XXIII.

	Sterilisator-Drigalski unverdünnt	Sterilisator-Drigalski verdünnt 1:2 H_2O
Paratyphus	Wachstum sehr gut, Kolonieen gut isoliert, scharf abgegrenzt, sehr deutl. Oberflächenkolonieen (24), deutlich graublau, Tiefenkolon. 98.	Wachstum geringer, starke Rasenbildung. 5 große Oberflächenkolonieen, 160 Tiefenkolonieen.
Coli	Deutlich rote Kolonieen. Tiefenkolonieen sehr klein (351), Oberflächenkolonieen 52.	Wachstum geringer als bei unverdünnt, starke Rasenbildung 6,3:4 cm. 52 Oberflächenkolonieen, 268 Tiefenkolonieen. Isolierung der Kolonieen weniger leicht möglich als bei unverdünnt, Farbenunterschied nicht wesentlich.

Bei Versuch XXIV wurden endlich Strichkulturen von Paratyphus und Coli angelegt. Die Herstellung geschah in der Weise, daß auf die fertig gegossenen und wieder abgekühlten Drigalski-Platten je eine Normalöse einer Agarstrichkultur Paratyphus oder Coli in Parallelstrichen aufgetragen wurde.

Nach 24-stündigem Wachsen im Brutschrank war folgendes Resultat abzunehmen:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Paratyphus	Wachstum gut, flächenartige Ausbreitung mit teilweiser geringer Rasenbildung.	Starkes bis üppiges Wachstum der einzelnen scharfmarkierten Striche, die sich zieml. über die Oberfläche erheben. Breite der Striche 4 mm, wenig Neigung zu Rasenbildung.	Einzelne Striche kaum mehr zu erkennen, ganze Platte durch einen ziemlich flachen Rasen ausgefüllt.
Alle 3 Nährböden intensiv blau, Kolonieen graublau.			
Coli	Nährboden rot-lila, einzelne Striche noch zu erkennen in flachem, rötlichem Rasen, der sich über nahezu die ganze Platte erstreckt.	Nährboden blau, Striche einzeln, ohne Rasenbildung, mit sehr gutem Wachstum, blaßrot gefärbt.	Nährboden rötlichblau, Striche nicht mehr zu unterscheiden, in einem üppigen, blaßroten Rasen, der nahezu d. ganze Platte bedeckt.

Bei Versuch XXIII und XXIV kam Brühe No. VIII zur Verarbeitung.

Das Ergebnis der Versuche mit Drigalski-Agar kann in folgende Punkte zusammengefaßt werden:

Eine wesentliche Beeinflussung der Farbenreaktion war weder bei unverdünnten noch bei verdünnten Sterilisatornährböden zu beobachten. Bei einigen Versuchen gewann man den Eindruck, daß in verdünntem Sterilisator-Drigalski die Farbenunterschiede deutlicher zutage treten.

Bezüglich des Verhaltens des Bac. enteritidis Gärtner ist zu konstatieren, daß das Wachstum auf Sterilisator-Drigalski wesentlich besser ist, als auf Normal-Drigalski und bei unverdünntem besser als bei verdünntem.

Bei verdünntem Sterilisator-Drigalski machte sich im Durchschnitt besonders eine für das Separieren von Kolonieen hinderliche Bildung von ausgedehntem dichten Rasen bemerkbar.

Im Vergleich mit Bact. coli ist hervorzuheben, daß Bac. Gärtner auf Sterilisator-Drigalski diesem Bakterium gegenüber im Wachstum stets überlegen war.

Auch Coli zeigte auf dem Sterilisatornährboden fast durchweg besseres Wachstum, als auf Normal-Drigalski. Die Rasenbildung war bei Verdünnungen weniger störend. Für Bac. paratyphi ergaben sich im allgemeinen ähnliche Verhältnisse wie für Bac. enteritidis Gärtner. Das Wachstum bei Sterilisator-Drigalski ist gegen normal bedeutend gesteigert.

Die nächsten Versuche beschäftigten sich mit Fuchsinagar nach Endo.

Auch hier geschah die Zubereitung vorschriftsmäßig, indem an Stelle des Fleischwassers Sterilisatorbrühe verwendet wurde.

Die fertigen unbeschickten Nährböden differierten insofern etwas, als der Sterilisator-Endo-Nährboden etwas dunkler gefärbt war, als Normal-Endo.

Bei der Versuchsserie XXV wurde Bac. paratyphi und Bact. coli einander auf unverdünntem und verdünntem (1:1 H_2O) Sterilisator-Endo-Nährboden gegenübergestellt.

Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Paratyphus	Nährboden lebhaft rot, Kolonieen heben sich nicht sehr deutlich ab. 207 Tiefenkolonieen, 12 Oberflächenkolonieen.	Nährboden rosarot, Kolonieen sich deutlich als helle Punkte abhebend. 211 Tiefenkolonieen, 12 Oberflächenkolonieen bis zu 1,5 mm Dm.
Coli	Nährboden intensiv rot, Kolonieen heben sich nicht deutlich ab. 279 Tiefenkolonieen, 67 Oberflächenkolonieen, Rasen 4,5 : 2,5 cm im Dm.	Nährboden schwach rosa, Kolonieen lebhaft rot, sehr deutlich. 225 Tiefenkolonieen, 47 Oberflächenkolonieen, Rasen 4,5 : 6,5 cm im Dm.

Das Ergebnis einer weiteren Versuchsreihe ist in folgender Tabelle XXVI zusammengestellt.

No. XXVI.

Paratyphus	318 Tiefenkolonieen, 39 Oberflächenkolonieen bis zu 5 mm im Dm., Rasen 4 : 5 cm. Nährböden: lebhaft rosa, Kolonieen nicht sehr deutlich, rötlich-grau.	215 Tiefenkolonieen, 19 Oberflächenkolonieen bis zu 4 mm im Dm., Rasen 6 : 5,5 cm. Nährboden schwach rötlich, Kolonieen deutlich sichtbar (grau).
Coli	227 Tiefenkolonieen, 41 Oberflächenkolonieen bis zu 2 mm im Dm., Rasen 4 : 6 cm. Nährboden lebhaft rot, Kolonieen schön tiefrot.	266 Tiefenkolonieen, 53 Oberflächenkolonieen bis zu 6 mm im Dm., Rasen nur klein und schwach. Nährboden hellrot, Kolonieen sehr kräftig und schön tiefrot.

Versuche mit einer wie oben beschrieben zustande gebrachten Mischinfektion der Platten mit Paratyphus und Coli bei verdünntem und unverdünntem Nährboden lieferten folgendes Ergebnis:

No. XXVII.

	Sterilisator-Endo unverdünnt	Sterilisator-Endo verdünnt 1 : 1 H_2O
Mischinfektion mit Paratyphus u. Coli	165 Paratyphus-Tiefenkolonieen. 39 Paratyphus-Oberflächenkolonieen. 276 Coli-Tiefenkolonien. 42 Coli-Oberflächenkolonieen. Nährboden blaßrot gefärbt. Oberflächenkol. von Paratyphus sehr deutlich, gut entwickelt, scharf konturiert, grau opaleszierend. Tiefenkolonieen als graue Punkte deutlich sichtbar. Coli: Oberflächenkolonieen gut entwickelt, deutlich rot. Tiefenkolonieen ebenso.	262 Paratyphus-Tiefenkolonieen. 30 Paratyphus-Oberflächenkolonieen. 310 Coli-Tiefenkolonieen. 19 Coli-Oberflächenkolonieen. Rasen 4 : 2 cm. Nährboden schwach rötlich. Paratyphus: Oberflächenkolon. gut entwickelt, scharf konturiert, sehr deutlich hellgrau (porzellanähnlich). Geringgradige Rasenbildung 0,5 : 1 cm. Tiefenkolonieen als hellgraue Punkte deutlich erkennbar. Coli: Oberflächenkolonieen gut entwickelt (bis zu 3,5 mm), graurot mit dunkelrotem Zentrum, kräftige Rasenbildung. Tiefenkolonieen als leuchtend rote Punkte sehr deutlich erkennbar.

Die Sterilisatornährböden für die Versuche XXV—XXVII sind aus Brühe No. VII hergestellt.

Die nächsten Versuche wurden mit stärkerer Verdünnung (1 : 2 H_2O) des Sterilisator-Endo vorgenommen.

Die Platten wurden mit Mischinfektion von Paratyphus und Coli beschickt.

Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

No. XXVIII.

	Sterilisator-Endo unverdünnt	Sterilisator-Endo verdünnt 1:2 H_2O
Mischinfektion mit Paratyphus u. Coli	25 Paratyphus-Oberflächenkolonieen, 52 Coli-Oberflächenkolonien. Wachstum der einzelnen Kolonieen sehr gut. Tiefenkolonieen nur von Coli als dunkelrote Punkte erkennbar. Farbenreaktion gut.	23 Paratyphus-Oberflächenkolonieen, 29 Coli-Oberflächenkolonieen. Wachstum der einzelnen Kolonien üppig, Neigung zu Rasenbildung. Farbenreaktion deutlicher.

Die Coli-Oberflächenkolonieen zeigen schönen Metallglanz.

No. XXIX.

Strichkulturen auf Platten, ausgeführt wie oben beschrieben.

Paratyphus	Wachstum gut in ca. 2 mm breiten, grauen, etwas rötlich schimmernden Streifen. Nährboden rosarot.	Wachstum üppig, Streifen 4 mm breit, dunkler gefärbt. Nährboden schwach rosa.
Coli	Wachstum sehr gut bis üppig, Streifen tief dunkelrot mit metallisch glänzender Oberfläche, 3—4 mm breit; Rasenbildung. Nährboden satt rosa.	Wachstum in Form eines flachen roten Rasens (7,5 : 5,5 cm), Striche nicht mehr zu unterscheiden. Nährboden schwach rotlila.

Zum Abschluß der Versuche mit Endo wurde noch ein Sterilisator-Nährboden mit der Verdünnung 3 : 1 H_2O geprüft.

No. XXX.

	Endo-Normal	Sterilisator-Endo verdünnt 3 : 1 H_2O
Paratyphus	Farbe des Nährbodens: rötlichgrau. Striche noch deutlich sichtbar, unter sich verbunden durch einen Rasen, der hellgrau (mit rötlichem Stich) gefärbt ist, wie auch die Striche. Wachstum gut.	Farbe des Nährbodens: Am Rand der Platte hellrot. Der übrige Teil desselben durch hellrötlichgelben Rasen ausgefüllt, in dem die Striche deutlich erkennbar sind. Wachstum üppig. Am Rand des Rasens zahlreiche Einzelkolonieen.
Coli	Nährboden: tiefrot. Striche nur schwach zu erkennen in schwachrotem Rasen. An der Peripherie desselben tiefer rot gefärbte Einzelkolonieen bis hirsekorngroß. Metallglanz ganz schwach. Wachstum gut.	Nährboden: dunkelrot. Striche noch als dunklere Streifen mit deutlichem Metallglanz in tiefrotem Rasen erkennbar. Rasen am Rand scharf abgegrenzt. Wachstum sehr gut.
Mischinfekt. Strich. (Mit Drigalskispatel verrieben	Ganze Platte bis auf schmalen Rand mit gleichmäßigem Rasen von hellgrauroter Farbe bedeckt. Einzelkolonieen am Rand hirsekorngroß, hellgraurot.	Tief dunkelroter Rasen mit Zügen von helleren und dunkleren Kolonieen durchquert. Die dunkleren Züge haben schwachen Metallglanz.

Für die Versuche XXVII—XXX kam Brühe No. VIII zur Verwendung.

Das Gesamtergebnis der Versuche mit Fuchsinagar nach Endo ist dahin zusammenzufassen, daß

1) der fertige unbeschickte, mit Sterilisatorbrühe hergestellte Nährboden sich insoweit von Normal-Endo unterscheidet, als Endo von unverdünnter Brühe eine dunklere Färbung aufweist. In Verdünnungen von 1 : 1 H_2O und 1 : 2 H_2O ist die Farbe heller. Die Verdünnung 3 : 1 H_2O weicht vom unverdünnten nicht erheblich ab.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Das Wachstum der zur Aussaat verwendeten Bakterien erwies sich auf Sterilisator-Endo durchweg besser, als auf Normal-Endo.

Auf unverdünntem Nährboden wuchs Coli meist besser als auf verdünntem, während für Paratyphus eine gegenteilige Beobachtung zu machen war.

Coli zeigte durchgehends größere Neigung zu Rasenbildung als Paratyphus.

3) Die Farbenreaktion war bei verdünntem Nährboden schöner und deutlicher, weil die gefärbten Kolonieen von dem helleren Farbenton sich besser abhoben als von dem oft sehr dunklen Hintergrund bei unverdünntem Nährboden.

Auch die an sich hellgefärbten Kolonieen von Paratyphus kamen im Durchschnitt auf verdünntem Nährboden besser zur Geltung.

Den Schluß der Versuche bildeten Untersuchungen mit Malachitgrünagar nach Loeffler.

Die Herstellung des Nährbodens geschah wie bei den anderen gefärbten Nährböden; zur Verwendung kam Brühe No. X.

Die Versuche erstreckten sich auf verdünnte Nährböden im Verhältnis von 3:1 H_2O, 1:1 H_2O und 1:2 H_2O. Zuerst wurde das Wachstum der Bakterien getrennt geprüft, hierauf in Form einer Mischinfektion.

No. XXXI.

	Malachitgrün-Sterilisator 3:1 H_2O	Malachitgrün-Sterilisator 1:1 H_2O	Malachitgrün-Sterilisator 1:2 H_2O
Coli	Farbe d. Nährbodens hellgrün. Schwacher Rasen mit zahlreichen randständigen Einzelkol. von Hirsekorngröße, deutlich grün gefärbt.	Farbe d. Nährbodens grün. Wachstum sehr schwach. Kolonieen bis hirsekorngroß, grün.	Farbe d. Nährbodens grün. Wachstum etwas besser. Rasen 6:3 cm. Kolonieen grün.
Paratyphus	Farbe d. Nährbodens gelb. Rasen über die ganze Platte. Kolonieen gelblich-weiß.	Farbe d. Nährbodens gelb. Wachstum üppig. Rasen über die ganze Platte bis auf schmalen Rand. Farbe des Rasens: gelblichweiß.	Farbe d. Nährbodens gelblichgrün. Rasen deutlich gelb. Wachstum etwas geringer.

No. XXXII.

Mischinfektion mit Paratyphus u. Coli	Farbe d. Nährbodens hellgelb. Wachstum gut. Rasen über beinahe die ganze Platte (gelb).	Farbe d. Nährbodens gelb mit ganz schwachgrünlichem Schimmer. Wachstum sehr gut. Rasen von gelber Farbe, über die ganze Platte verteilt.	Farbe d. Nährbodens gelblich-grün. Wachstum der gelben Kolonieen geringer. Gelber Rasen, einzelne grüne Kolonieen.

Die Beschickung der Platten bei Versuch XXXI geschah durch Auftragen einer Normalöse einer Agarstrichkultur auf die abgekühlte Platte und Verteilen des Materials mit dem Drigalski-Spatel über die ganze Oberfläche.

Analog wurde je mit einer Normalöse jeder Bakterienart bei Versuch XXXII verfahren.

Auf Normalmalachitgrünnährboden war das Wachstum von Paratyphus schwächer als auf Sterilisatornährboden 3:1 H_2O und 1:1 H_2O.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In der Farbenreaktion bestanden keine wesentlichen Unterschiede.

Die Malachitgrünversuche ergaben somit:

Bezüglich der Farbenreaktion keine erhebliche Differenz.

Bei Paratyphus erwies sich mäßige Verdünnung der Sterilisatorbrühe vorteilhaft für das Wachstum, während starke Verdünnung (1:2 H_2O) auf das Wachstum nachteilig wirkte.

Bact. coli zeigte dagegen auf 1:2 H_2O verdünntem Nährboden besseres Wachstum, auf schwach verdünntem Nährboden deutliche Wachstumshemmung.

Faßt man die Ergebnisse sämtlicher Versuchsreihen zusammen, so läßt sich zunächst feststellen, daß auf allen zur Prüfung herangezogenen, aus Sterilisatorbrühe hergestellten Nährböden ein gutes, ja sogar zum Teil ganz erheblich gesteigertes Wachstum der Testbakterien im Vergleich zu Normalnährböden zu beobachten war. Eine Ausnahme war nur bei Milzbrand zu verzeichnen, der in Sterilisatorbouillon und Sterilisatorgelatinestich in seinem Wachstum etwas gehemmt erschien.

Das Wachstum der einzelnen Bakterienarten ließ auf den Sterilisatornährböden eine Abweichung vom typischen nicht erkennen.

Es läßt sich also die Sterilisatorfleischbrühe zur Herstellung der üblichen Nährböden recht wohl verwenden.

Die aus Sterilisatorbrühe hergestellten gefärbten spezifischen Nährböden

Drigalski-, Endo- und Malachitgrünagar

weisen dieselben Eigenschaften und Färbungen auf, wie die aus Fleischwasser in der üblichen Weise hergestellten. Sie bringen dieselbe Wachstumseigentümlichkeit und Wachstumsenergie sowie dieselben Farbenveränderungen bei Beschickung mit den entsprechenden Bakterien zum Ausdruck.

Durch mäßige Verdünnung der Brühe mit Wasser (2:1) ließ sich die Farbenreaktion deutlicher gestalten, ohne daß das Wachstum der Bakterien wesentlich beeinflußt erschien.

Bei Malachitgrünagar erschien durch solche Verdünnung auch die Wachstumshemmung der Coli-Bakterien gesteigert.

Die aus Sterilisatorbrühe hergestellten gefärbten Nährböden erwiesen sich somit auch — verdünnt oder unverdünnt — zu dem beabsichtigten Zweck, nämlich der Differenzierung der bei bakteriologischen Fleischuntersuchungen und auch sonstigen bakteriologischen Arbeiten in Betracht kommenden verschiedenen Bakterienarten durch die Farbenreaktion und die Art des Wachstums durchaus geeignet.

Bei den ungefärbten Nährböden erwies sich eine Verdünnung nicht von einschneidender Bedeutung.

Da übrigens für die Verschiedenheit der Konzentration der Sterilisatorbrühe, wie oben ausgeführt, mehrere ursächliche Faktoren in Betracht kommen und es nicht immer möglich ist, diese auszuschalten, so dürfte ein Versuch einen allgemein geltenden Verdünnungsgrad der Brühe aufzustellen von vornherein als aussichtslos zu betrachten sein.

Für das Wachstum der Bakterien scheint es übrigens auch nicht notwendig zu sein, daß die Bouillon immer einen und denselben Konzentrationsgrad besitzt. Die Hauptsache ist wohl, daß die für eine gedeihliche Existenz der Bakterien notwendigen organischen und mineralischen Bestandteile in der Bouillon überhaupt enthalten sind.

Jedenfalls dürfte aus den Versuchen zu entnehmen sein, daß die Sterilisatornährböden, auf welche die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Untersuchungen ausgedehnt worden sind, den Normalnährböden in ihren wachstumsfördernden Eigenschaften den betreffenden Bakterien gegenüber im allgemeinen nicht nachstehen.

Dabei ist wohl zu berücksichtigen, daß die Herstellung der Normalnährböden mit nicht unbeträchtlichen Kosten verknüpft ist.

Kathe und Blasius (9) berechnen den Preis für

1 Liter Malachitgrünagar auf M. 1,40,
1 „ Drigalski-Conradi-Agar auf M. 2,59,
1 „ Endo-Agar auf M. 1,42.

Nach Berechnungen, die im Institut angestellt wurden, muß für 1 Liter Fleischwasser mit Einrechnung sämtlicher Unkosten (ohne Zeitaufwand) jedenfalls nicht unter M. 1,— in Rechnung genommen werden.

Die Sterilisatorbrühe dagegen wird als nahezu wertloses Nebenprodukt der Fleischsterilisation gewonnen. Bei ihrer Verwendung ist somit durch Wegfall dieser Ausgabe eine wesentliche Verbilligung der Nährböden zu erzielen, die im Haushalt eines Laboratoriums mit großem Verbrauch an Kulturen auf das Jahr eine beachtenswerte Summe repräsentieren dürfte.

Dazu kommt noch, daß bei Verarbeitung von Sterilisatornährböden ein nicht unbeträchtlicher Aufwand an Zeit und Arbeit in Wegfall kommt, da die fertige Brühe direkt dem Sterilisierapparat zu entnehmen ist.

Werden alle diese Gesichtspunkte ihrer Bedeutung entsprechend gewürdigt, so dürfte der Schluß wohl berechtigt erscheinen, die Verwendung der Sterilisatorbrühe zur Herstellung der üblichen Nährböden, speziell für Schlachthauslaboratorien, als nach verschiedener Richtung rationell zu empfehlen.

Vorstehende Arbeit ist im Institut für Seuchenlehre der Kgl. Tierärztlichen Hochschule in Stuttgart angefertigt worden. Es drängt mich, dem Vorstand des Instituts, Herrn Prof. Dr. Reinhardt, für die Ueberweisung des Themas, sowie für die bereitwillige Förderung der Ausarbeitung an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszudrücken.

Literaturverzeichnis.

1) Schneider und Seligmann, Studien zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58. p. 413.)
2) Hart, Ueber die Herstellung der Bakteriennährböden aus künstlichen Bouillonpräparaten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. p. 449.)
3) Bongert, Bakteriologische Diagnostik. 2. Aufl. 1908. p. 37.
4) —, ibidem. p. 36.
5) Fröhner, R. und Wittlinger, C., Der Preußische Kreistierarzt als Beamter, Praktiker und Sachverständiger. Berlin 1905. Bd. 3. p. 967.
6) Schneider und Seligmann (siehe No. 1), p. 417.
7) Martenson, J., Arch. d. Pharm. Jahrg. 58. 1879. p. 248.
8) Emmerich und Trillich, Anleitung zu hygienischen Untersuchungen. 3. Aufl. 1902. p. 133—137.
9) Kathe und Blasius, Vergleichende Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit älterer und neuerer Typhusnährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. p. 586.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Inhalt.

Cardamatis, Jean P., Tableaux dressés sur les données fournies par 9486 observations cliniques et 4287 au microscope faites l'année dernière 1910, p. 232.
Castellani, Aldo, Observations on fungi of the genus Endomyces affecting man in the tropics, p. 236.
Conradi, H., Zur bakteriologischen Typhusdiagnose, p. 238.
Galli-Valerio, B., Observations microscopiques sur la „Verruga peruana" ou „Maladie de Carrion", p. 228.
de Gasperi, Federico u. **Savini, Emil**, Beitrag zur Züchtungs- und Isolierungstechnik der anaëroben Mikroorganismen, p. 239.
Kostrzewski, J., Ueber die violette Farbe bei hämolytischen Versuchen, p. 262.
Niosi, Francesco, Untersuchung eines streng anaëroben Bacillus, ausschließlichen Erregers einer eiterigen Pleuritis. Bakteriologische, experimentelle und histologische Untersuchungen, p. 193.
Schilling, Claus, Ein Apparat zur Erleichterung der Romanowsky-Färbung, p. 264.
Stolpp, Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Sterilisatorfleischbrühe von Schlachthöfen zur Verarbeitung zu Nährböden für Bakterienzüchtung, mit besonderer Berücksichtigung der für die bakteriologische Fleischbeschau benötigten Spezialnährböden, p. 265.
Whitmore, Eugene R., Vorläufige Bemerkungen über Amöben aus Manila und Saigon, p. 234.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 58. Heft 4.
Ausgegeben am 19. April 1911.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bakterienflora im Verdauungsschlauch von Cricetus frumentarius, unter besonderer Berücksichtigung der anaëroben Fäulniserreger.

[Aus dem physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule zu Dresden (Direktor: Geheimer Rat Prof. Dr. Ellenberger), physiolog.-chem. Abteilung, Leiter: Prof. Dr. Scheunert.]

Von **Anna Hopffe.**

Im Verfolg von Untersuchungen, die in unserem Institut von Scheunert[1]) über die Verdauung von Cricetus frumentarius, dem Hamster, in den letzten Jahren angestellt worden sind, machte sich eine genauere Kenntnis der im Verdauungsschlauche dieses Tieres lebenden Bakterienarten notwendig. Es hatte sich nämlich herausgestellt, daß der Magen des Hamsters nicht nur, wie dies schon länger bekannt ist, in anatomischer Hinsicht, sondern auch in physiologischer, eine Art Mittelstellung zwischen denselben Teilen des Verdauungsschlauches der großen Herbivoren mit einhöhligen Mägen (Pferd) einerseits und der Herbivoren mit mehrhöhligen Mägen (Wiederkäuer) andererseits darstellt. Für die in unserem Institute seit langen Jahren von Ellenberger und seinen Mitarbeitern angestrebte Erforschung der Verdauungsvorgänge bei den Haustieren war es daher von großer Bedeutung, die Vorgänge im Hamstermagen zu erforschen, da dessen oben angedeutete Mittelstellung vergleichende Betrachtungen, und somit ein genaueres Eindringen in die vielfach ursächlich noch unerforschten Vorgänge in den Mägen der genannten Haustiere zuließ[2]). Da bekanntlich in den Vormägen der Wiederkäuer der bakterielle Abbau der Nähr- und Inhaltsmassen von wesentlicher Bedeutung ist und sich sowohl auf Kohlehydrate wie auf Eiweißkörper erstreckt[3]), und auch im Pferdemagen lebhafte Gärungsvorgänge ablaufen, so erschien es geboten, zunächst die Bakterienflora des zweihöhligen Hamstermagens zu untersuchen. Herr Prof. Scheunert betraute mich mit der Vornahme dieser Untersuchung und stellte mir im Anschluß hieran die Aufgabe, auch die Bakterienflora der übrigen Darmteile des Hamsters, über die diesbezüglich noch nichts bekannt ist, zu erforschen.

Dadurch, daß der Hamster, nicht allein seinem Beinamen „frumentarius" entsprechend, Herbivore ist, sondern auch sehr gern und reichlich reine Fleischnahrung zu sich nimmt (vgl. l. c. 1 u. 2), war weiter die Möglichkeit geboten, die Beeinflussung der Bakterienflora

1) Scheunert, A., Ueber die Verdauung von Cricetus frumentarius. (Pflügers Archiv. Bd. 121. 1908. p. 169.) — Ueber die Verdauung von Cricetus frumentarius bei Fleischnahrung. (Ebenda. Bd. 139. 1911. p. 131.)

2) Scheunert, A., Vergleichende Studien über den Eiweißabbau im Magen. (Otto Wallach-Festschrift. p. 584—630. Göttingen (Vandenhoeck u. Ruprecht) 1909.

3) Hopffe, A., Ueber das Vorkommen anaërober Fäulniserreger im Magen, besonders im Pansen der Wiederkäuer. (Bericht über d. Kgl. Tierärztl. Hochschule Dresden. 1908.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch die genannten Ernährungsweisen festzustellen. Bei der großen Bedeutung, die den anaëroben Bakterien bei der Eiweißfäulnis zugesprochen werden muß, wurde besonderer Wert auf Isolierung der hierbei in Frage kommenden Arten gelegt.

Die Hamster, welche im Herbste gefangen waren, wurden in Einzelkäfigen während des Winters 1908/9 und in der Folgezeit aufbewahrt. Die Stalltemperatur betrug nie unter 15°. Winterschlaf trat bei dieser Haltung nicht ein. Im allgemeinen wurden die Hamster mit Vegetabilien, z. B. Möhren, Hafer, Rüben u. dgl., gefüttert und erhielten als Getränk reines Wasser. Diejenigen Tiere, bei denen die bei Fleischnahrung vorhandene Bakterienflora untersucht werden sollte, wurden eine Zeitlang dauernd mit rohem Fleisch ernährt. Die zum Versuche bestimmten Hamster wurden, ohne Rücksicht auf den jeweiligen Füllungsgrad des Verdauungsschlauches, zu beliebigen Zeiten getötet.

I. Untersuchung auf Aërobier.

Methodik. Die Hamster wurden sofort nach der Tötung eröffnet und den einzelnen Darmabschnitten unter sterilen Kautelen mit der Pravazschen Spritze Proben entnommen, und das Material per Oese in mit je 10 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung beschickte Reagenzgläser eingetragen; hierauf wurden in üblicher Weise Verdünnungen in Agar und Gelatine hergestellt und zu Platten ausgegossen. Nach 24-stündiger und längerer Aufbewahrung der Agarplatten im Thermostaten und der Gelatineplatten bei Zimmertemperatur wurden die ausgewachsenen Kolonieen makroskopisch und mikroskopisch bei schwacher Vergrößerung betrachtet. Von den verschiedenen Kolonieen wurden hierauf Reinkulturen angelegt und diese dann auf verschiedene Nährmedien übertragen, um ihr biologisches Verhalten kennen zu lernen und sie zu diagnostizieren. Als Nährmedien kamen zur Verwendung:

1) Der übliche 1-proz. Fleischpeptonagar (Reaktion sauer und alkalisch). 2) Die übliche 1-proz. Nährgelatine (alkalisch). 3) Glyzerinagar (alkalisch). 4) Zuckeragar. 1-proz. (alkalisch). 5) Nährbouillon (sauer und alkalisch). 6) 1-proz. Traubenzuckerbouillon (auch in Gärungskölbchen, alkalisch). 7) Kulturen auf Kartoffeln. 8) Milch. 9) Lackmusmolke (Petruschky).

Gelegentlich wurden auch noch andere Nährböden angewendet, z. B. Agar und Gelatine mit Zusatz einer wässerigen, sterilisierten Kreideaufschwemmung usw.

Nach sorgfältiger Untersuchung der auf den verschiedenen Nährböden gewachsenen Reinkulturen wurde die Zugehörigkeit der Bakterien zu den verschiedenen Gattungen bestimmt. Berücksichtigt wurde:

I. Untersuchung auf Beweglichkeit.
II. Betrachtung im gefärbten Präparat (Gramfärbung).
III. Sporenbildung.
IV. Sauerstoffbedürfnis.
V. Verhalten in Gelatine und Agar, Platte, Stich- und Strich- (Verflüssigung), Form und Art des Wachstums, Farbstoffbildung, usw.
VI. Gasentwickelung aus Traubenzuckerbouillon und in Zuckeragar.
VII. Verhalten in Lackmusmolke.
VIII. Verhalten in Milch.
IX. Indolbildung.
X. Verhalten auf der Kartoffel.

Ich schloß mich in der Hauptsache dem von Matzuschita angegebenen Wege zur Diagnostik der Bakterien an. Soweit es sich, wie dies meist der Fall war, um wohlbekannte, auch im Verdauungsschlauch anderer Tiere aufgefundene Mikroben handelte, deren Eigenschaften genugsam bekannt sind, habe ich auf eine detaillierte Beschreibung derselben verzichtet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ergebnisse der Untersuchung.

a) Bei pflanzlicher Fütterung.

Hamster I.

Vormageninhalt: Reagierte schwach alkalisch. 1) Milchsäurebakterien, besonders auf den Agarplatten reichlich ausgewachsene Kolonieen, viel in Kettenverbänden angeordnete, zugespitzte, feine, unbewegliche Stäbchen, grampositiv, verflüssigten Gelatine. 2) Bact. lactis aërogenes. 3) Bact. coli comm., welches kein Indol bildete. 4) Verschiedene Vertreter der Heubacillengruppe; mit rauhen, runzligen und glatthäutigen Kolonieen von brauner bis weißer Farbe. 5) Bac. mycoides, auf den Gelatineplatten mit charakteristisch gewundenen Ausläufern. 6) Einige Hefezellen. 7) Sarcina lutea, große, meist sechsteilige Würfel bildend und im hängenden Tropfen von deutlich heller Zone umgeben. 8) Außerdem fanden wir hier zum ersten Male eigenartige Bacillen, die zu außerordentlich langen, sich energisch bewegenden Fäden angeordnet waren. Dieser Bacillus war regelmäßig bei Betrachtung des frisch entnommenen Materials unter dem Mikroskop (hängender Tropfen, Oelimmersion) im Vormagen und Caecum aller Hamster zu finden. Er erregte unser höchstes Interesse, und es wurde deshalb immer versucht, ihn rein zu züchten, um seine Eigenschaften, Wachstumsbedingungen etc. kennen zu lernen. Da er sich aber bei aërober Züchtung stets bald zurückbildete, gelang dies mit gewöhnlichem Verfahren nur unvollkommen. Erst bei Anwendung anaërober Züchtungsmethoden hatten wir mehr Erfolg. Die auf diesem Wege gefundenen Eigenschaften waren folgende: Der Bacillus trat in sehr langen, lebhaft beweglichen (besonders im lebenswarmen Präparat) Scheinfäden auf. Sauerstoffzutritt hemmte seine Beweglichkeit, das Präparat im hängenden Tropfen zeigte die Bacillen meist am Rande gelagert, hingegen in der Mitte lebhaft. Grampositiv, ältere Kulturen zeigten etwas Granulosebildung und färbten sich mit Jodlösung gelb bis bräunlich. Die anaërobe Gelatinekultur bildete eine Proteus-ähnliche Kolonie, im Reagenzglas trat schnelle Verflüssigung ein, und zwar in der Weise, daß die obere Hälfte als eine wolkige, trübe Flüssigkeit erschien, während die untere klar und fest blieb (Leimgeruch).

Die anaërobe Strichkultur zeigt schwaches Wachstum, bildete in der Kuppe graues Kondenswasser, welches alkalisch reagierte. Auf der Agarplatte Proteus-ähnliche Kulturen, Agarstich bildete einen glatten Stichkanal. Peptonbouillon: Keine Indolbildung, Reaktion alkalisch, in der Tiefe trübes Sediment gebildet. Schwefelwasserstoff: Negativer Ausfall. Traubenzuckerbouillon: Der Bacillus hatte kein Gas gebildet, Reaktion alkalisch. Milch: Nicht koaguliert. Lackmusmolke: Reaktion alkalisch. Milchsäurebildung: Ganz schwach. Kartoffel: Sehr schlechtes Wachstum; der Bacillus hatte seine Beweglichkeit fast ganz eingebüßt. Sauerstoffbedürfnis: Keines vorhanden, da der Bacillus nur anaërob seine typischen Eigenschaften bewahrte, aërob sich aber in kurzer Zeit zurückbildete (24 Stunden). In 1-proz. Gelatinewasser mit physiologischer Kochsalzlösung hielten sich diese Fäden typisch bis 4 Wochen im anaëroben Reagenzglas.

Bei einem nur auf Anaërobier untersuchten Hamster (No. XIII) gelang es, den Bacillus rein zu züchten und ihn als anaëroben Fäulniserreger zu erkennen. Die hierzu angestellten Versuche werden bei Hamster XIII in ausführlicher Weise geschildert werden. Der Bacillus dürfte ein ähnlicher Organismus, wie die von Kemp[1]) neuerdings wieder beschriebenen, in menschlichen Stühlen gefundenen Streptothrix-artigen Fäden sein. Wir werden ihn bei den Versuchstieren, wo er angetroffen worden ist, als „Beweglicher Bacillus in Scheinfäden" bezeichnen und aufführen.

Drüsenmageninhalt: Reagierte schwach sauer. 1) Milchsäurestäbchen. 2) Bact. coli comm., mit und ohne Indolbildung, ziemlich reichlich vertreten. 3) Heubacillen. 4) Bac. mesentericus vulgatus, hier ganz kugelrunde Sporen bildend. 5) Micrococcus luteus und Sarcina lutea. Diese zwei Mikroben wuchsen makroskopisch völlig gleich an Form und Farbe nebeneinander aus; mikroskopisch, bei schwacher Vergrößerung, ließ die Sarcina-Kultur kleinste Randunebenheiten erkennen. Coloninhalt: Reagierte amphoter. 1) Bact. coli comm. mit Indolbildung. 2) Kokken und Diplokokken, welche schon am 2. Tag Gelatine vollständig verflüssigten. 3) Heubacillen. 4) Bac. mycoides mit typisch wurzelförmig verlaufender Ausbreitung.

1) Kemp, Ueber Versuche, aus Gärungsstühlen den Granulobacillus saccharobutyricus zu züchten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 48. 1908. p. 64.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hamster II.

Vormageninhalt: Reagierte alkalisch. 1) Bacterium „Güntheri". 2) Heubacillen. 3) Wurzelbacillen. 4) Bac. fluorescens liquefaciens. 5) Hefezellen, grampositiv. 6) Sarcina lutea. 7) Eine Sarcina, deren Kulturen tief rötlichgelb auswuchsen und Gelatine nicht verflüssigten. 8) Schimmelpilzkolonieen. 9) Bewegliche Bacillen in Scheinfäden. Mageninhalt: Reagiert schwach sauer. 1) Bact. Güntheri. 2) Heubacillen. 3) Bac. mesentericus. 4) Bact. coli comm. mit und ohne Indolbildung. 5) Micrococcus luteus.

Duodenuminhalt: Reagiert sauer. 1) Ein nicht genau zu bestimmender Diplococcus, der Platte entströmte widerlicher Fäulnisgeruch, bildete auf Agar zarte, runde (punktförmige) Kolonieen. Auf Gelatineplatten wuchsen die Kolonieen größer aus und verflüssigten nach 2 Tagen; reagierten in Lackmusmolke alkalisch. Milch gelabt. Auf Kartoffel schwaches, sehr undeutliches Wachstum, auf Zucker etwas Gase bildend, grampositiv, Molekularbewegung. 2) Pseudosubtilis. 3) Bact. coli comm. ohne Indolbildung. 4) Bact. Güntheri (wenige).

Caecuminhalt: Reagiert alkalisch. 1) Bac. subtilis. 2) Bact. coli, mit und ohne Indolbildung. 3) Bac. Proteus vulgaris. 4) Milchsäurestäbchen, beweglich.

Rectuminhalt: Reagiert amphoter. Enthielt nur sehr geringe trockene Inhaltsmassen. 1) Bact. coli comm. 2) Bac. subtilis. 3) Bac. Megatherium, eigenbewegliche Stäbchen mit endogenen Sporen; verflüssigten Gelatine. Bildeten auf Kartoffel und der Agarplatte schleimige, glatt glänzende, gelbliche Kolonieen. Die Stäbchen zeigten oft eine gekrümmte gebogene Form und waren von einer Kapsel umgeben. 4) Bact. lactis aërogenes. 5) Bac. mesentericus. 6) Verflüssigende Diplokokken, wie oben unter Duodenum beschrieben.

Hamster III.

Vormagen: Reagierte schwach alkalisch. 1) Bact. Güntheri. 2) Heubacillen. 3) Hefezellen. 4) Bac. Proteus. 5) Micrococcus roseus. 6) Farblose Sarcina. 7) Bac. fluorescens liqu. (?). Kurze, sehr bewegliche Bacillen, zu zweien und mehreren verbunden. Grampositiv. Wuchs anfangs als glashelle, runde Kolonie, später grünlich fluoreszierend. Gelatine schnell verflüssigend; auf Kartoffeln braune Schicht. 8) Bewegliche Bacillen in Scheinfäden.

Drüsenmagen: Reagiert schwach sauer. 1) Bact. Güntheri (weniger als im Vormagen). 2) Bact. coli ohne Indol. 3) Bact. lactis aërogenes. 4) Sarcina lutea.

Caecum: Reagiert alkalisch. 1) Bac. mesentericus, sehr schnell verflüssigend. 2) Bact. coli. comm. ohne Indol. 3) Proteus vulgaris. 4) Köpfchensporen tragende Stäbchen, eigenbeweglich, grampositiv, gasbildend, Milchkoagulation, in Lackmusmolke und Bouillonkultur amphotere Reaktion. Nicht weiter züchtbar. Soweit, wie hier beschrieben, kamen sie öfter vor; ich nehme an, daß dies einer der Buttersäurebacillen ist (vgl. Anaërobier). 5) Beweglicher Bacillus in Scheinfäden.

Rectum: Reagierte schwach sauer. 1) Bact. coli comm. 2) Bac. subtilis. 3) Verflüssigende Kokken.

Hamster IV.

Vormagen: Reagierte alkalisch. 1) Bact. Güntheri. 2) Bac. mesentericus. 3) Bac. subtilis. 4) Micrococcus agilis. Bewegliche Kokken; oft zu zweien oder in Kettenverbänden auftretend. Gelatine zeigte besonders deutlich rosa Kolonieen, welche auf der Agarplatte erst außerhalb des Brütofens gut auswuchsen und sich tief rosarot verfärbten. Auch auf Kartoffel rote, punktförmige Auflagen. Bouillon: schwachsaure Reaktion. Milch: etwas geronnen. Im Gärkölbchen nur aërobes Wachstum. Der Micrococcus ist grampositiv. 4) Bewegliche Bacillen in Scheinfäden.

Drüsenmagen: Reagierte sauer. 1) Bact. Güntheri. 2) Bac. coli comm. 3) Bac. Pseudosubtilis. 4) Bac. megatherium; auffallend stark gekrümmt und beweglich. Endständige Spore, wie ein Tautropfen aufsitzend. Verflüssigte Gelatine schon am ersten Tage. 5) Mikrokokken, unbeweglich, Gelatine verflüssigend. 6) Rosahefe.

Duodenum: Reagierte schwach sauer. 1) Milchsäurebacillen in sehr geringer Menge. 2) Bact. coli mit und ohne Indolbildung. 3) Sarcina lutea. 4) Kokken unbeweglich, Gelatine nicht verflüssigend.

Ileum: Reagierte schwach sauer. Hatte im allgemeinen dieselbe Bakterienflora wie Duodenum, nur herrschte hier Coli mit Indolbildung vor.

Jejunum: Reagierte schwach sauer, Bakterienflora wie Ileum.

Caecum: Reagierte schwach alkalisch. 1) Bacillen mit end- und mittelständigen Sporen. Beweglich. Grampositiv. Gingen beim Züchten verloren (wahrscheinlich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Anaërobier). 2) Bact. lactis aërogenes. 3) Heubacillen. 4) Bewegliche Bacillen in Scheinfäden.

Colon: Reagierte schwach sauer. 1) Bact. coli comm. 2) Diplokokken, grampositiv, unbeweglich, schnell verflüssigend. 3) Bac. Güntheri (wenig). 4) Heubacillen mit verschiedener Oberflächenbildung.

Rectum: Reagierte amphoter und enthielt nur geringe trockene Inhaltsmassen und relativ wenig Bakterien. 1) Bact. coli comm. 2) Bac. mesentericus. 3) Kokken, welche verflüssigten. 4) Bac. subtilis.

Hamster V.

Vormagen: Reagierte alkalisch. 1) Bact. Güntheri. 2) Bact. coli ohne Indolbildung. 3) Bac. subtilis (Ehrenberg). 4) Sproßpilze. 5) Sarcina lutea. 6) Schimmelpilze. 7) Micrococcus roseus. 8) Bacillen mit Köpfchensporen. Grampositiv. Sehr beweglich, aber nicht züchtbar (wahrscheinlich Anaërobier).

Drüsenmagen: Reagierte sehr sauer. 1) Bact. coli comm. 2) Milchsäurestäbchen. 3) Heubacillen. 4) Sarcina lutea. 5) Mikrokokken, unbeweglich, Gelatine verflüssigend.

Duodenum: Reagierte schwach sauer. 1) Bact. lactis aërogenes. 2) Bact. coli ohne Indolbildung. 3) Bac. mesentericus. 4) Diplokokken, die schon mehrfach gefunden wurden (vgl. oben).

Ileum: Reagiert amphoter. 1) Bact. lactis aërogenes. 2) Milchsäurestäbchen (wenig). 3) Bac. Proteus Zenkeri, Gelatine wurde nicht verflüssigt. 4) Diplokokken (wie oben).

Jejunum: Reagierte amphoter. Bakterienflora wie bei Ileum.

Caecum: Reagierte alkalisch. 1) Bact. Güntheri ganz minimal. 2) Bacillen mit Köpfchensporen, leicht beweglich, wuchsen nur auf Zuckeragar aus, nicht weiter züchtbar (Anaërobier). 3) Heubacillen. 4) Bact. coli ohne Indolbildung. 5) Beweglicher Bacillus in Scheinfäden.

Colon: Reagierte schwach alkalisch. 1) Kokken verflüssigten Gelatine schon am 2. Tage. 2) Bact. coli comm. positive Indolbildung. 3) Diplokokken, beweglich, grampositiv, nicht verflüssigend. Auf der Platte feine, punktförmige Kolonieen. Auf Kartoffel kein Wachstum. Aus Traubenzucker keine Gasbildung. 4) Bact. lactis aërogenes.

Rectum: Reagierte amphoter. 1) Bact. coli comm., indolbildend. 2) Bac. megatherium. 3) Bac. pseudosubtilis.

Hamster VI.

Vormagen: Reagierte alkalisch. 1) Heubacillen. 2) Hefezellen. 3) Sarcina lutea. 4) Bakterien in Trommelschlägelform sporulierend, nicht weiter züchtbar, wahrscheinlich Anaërobier. 5) Gelbe Staphylokokken. 6) Bewegliche Bacillen in Scheinfäden.

Drüsenmagen: Reagierte schwach sauer. 1) Bact. Güntheri. 2) Bact. lactis aërogenes. 3) Heubacillen. 4) Schimmelpilzkolonie (Mucor). 5) Micrococcus luteus. 6) Coli-ähnliche Bacillen.

Duodenum: Reagierte amphoter. 1) Bact. coli comm., mit und ohne Indolbildung. 2) Proteus vulgaris. 3) Diplokokken, Gelatine verflüssigend. 4) Bac. pseudosubtilis.

Ileum: Reagierte sauer. 1) Bact. coli comm. mit Indolbildung. 2) Bact. Güntheri, sehr wenige. 3) Bac. mesentericus.

Jejunum: Reagierte sauer. Dasselbe wie bei Ileum, positive Heubacillen.

Caecum: Reagierte amphoter. 1) Bact. coli comm. ohne Indolbildung. 2) Bacillen, eigenbeweglich mit Köpfchensporen, beim Züchten verloren gegangen; wahrscheinlich ein Anaërobier. 3) Hefezellen. 4) Diplokokken nicht verflüssigend. 5) Kokken verschiedener Größe, einzeln und zu Tetraden angeordnet. Grampositiv, Gelatine langsam verflüssigend. 6) Beweglicher Bacillus in Scheinfäden.

Colon: Nicht ausgeführt.

Rectum: Reagierte amphoter. 1) Bact. coli comm. 2) Einige wenige Bact. Güntheri. 3) Unbewegliche Kokken, nicht verflüssigend.

Hamster VII.

Vormagen: Reagierte stark alkalisch. 1) Bact. Güntheri. 2) Heubacillen mit verschiedener Hautbildung. 3) Bact. coli ohne Indolbildung. 4) Bac. Megatherium; einheitlich gekrümmte Formen und mangelhafte Eigenbewegung.

Drüsenmagen: Reagierte schwach sauer. 1) Bact. coli comm. mit Indolbildung. 2) Bact. Güntheri, nur wenige. 3) Kokken, Gelatine schnell verflüssigend. 4) Sarcina, farblos, sehr langsam verflüssigend.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Duodenum: Reagierte sauer. 1) Bact. coli comm. mit Indolbildung. 2) Proteus Zenkeri. 3) Heubacillen. Bac. mycoides.

Caecum: Reagierte schwach alkalisch. 1) Bacillen, ziemlich groß; öfter zu zweien verbunden, mittelständige Sporen. Die Agarkolonie wuchs gelblich-grau als feuchter Belag aus, Gelatine wurde schnell verflüssigt, Milch gerann, und die Bouillonkultur reagierte alkalisch. Im Gärkölbchen aus Zucker anaërob Gas gebildet. Der Bacillus war grampositiv und schien identisch mit dem von Hüppe beschriebenen Bac. butyricus zu sein. 2) Bact. coli comm. ohne Indolbildung. 3) Diplokokken, unbeweglich, grampositiv, ziemlich groß, Gelatine nicht verflüssigend.

Colon: Verloren gegangen.

Rectum: Reagierte amphoter. 1) Bact. coli comm. mit und ohne Indol. 2) Heubacillen. Beide Bakterienarten waren nur minimal ausgewachsen.

Hamster VIII.

Vormagen: Reagierte schwach alkalisch. 1) Bact. coli ohne Indolbildung. 2) Bact. Güntheri. 3) Pseudoheubacillen. 4) Sarcina lutea. 5) Bewegliche Bacillen, sehr fein, mit Köpfchensporen, nur im Agartiefstich als punktförmige Kolonie gefunden, dann eingegangen (wahrscheinlich ein Anaërobier). 6) Große grampositive Stäbchen, ohne Eigenbewegung. Im Zuckeragar viel Gasbildung, ebenso im anaëroben Schenkel des Gärkölbchens. Reagierte sauer und verflüssigte Gelatine, das Stäbchen ging beim Weiterzüchten verloren (wahrscheinlich Anaërobier). 7) Bac. fluorescens aureus, leichte bewegliche sporenlose gramnegative Stäbchen, welche besonders im Tiefstich gut auswuchsen, keine Milchgerinnung, in Traubenzucker etwas Gase gebildet, auf Agar sehr langsames Wachstum, die Kolonieen verfärbten sich am 3. Tage gelbbraun-grünlich fluoreszierend, Gelatine war nicht verflüssigt.

Drüsenmagen: Reagierte sauer. 1) Bact. coli ohne Indolbildung. 2) Bact. lactis aërogenes. 3) Bact. Güntheri. 4) Verflüssigende Diplokokken. 5) Eine farblose Sarcina, Gelatine nicht verflüssigend.

Duodenum: Reagierte schwach sauer. 1) Micrococcus candicans. Große unbewegliche Kokken ohne Sporen, grampositiv, auf Agar sehr zartes Wachstum, durchscheinend mattglänzender Belag, in Bouillon nur in der Tiefe getrübt, reagierte schwach sauer, bildete kein Indol. Gelatine wurde nicht verflüssigt; aus Milch Kasein ausgefällt, die amphoter reagierte. In Traubenzuckerbouillon kein Gas gebildet, die Kolonieauflagen waren farblos. 2) Verschiedene Coli-Bakterien. 3) Eine Sarcina. 4) Diplokokken, unbeweglich und Gelatine verflüssigend.

Caecum: Reagierte schwach alkalisch. 1) Trommelschlägelformen, feine Bacillen mit Köpfchensporen, sehr beweglich, grampositiv, nicht weiter züchtbar (wohl Anaërobier). 2) Proteus Zenkeri. 3) Heubacillen. 4) Micrococcus tetragenus, diese schon öfter vorher beobachteten Mikrokokken ließen sich hier reinzüchten und nachweisen. Es waren sehr kleine, zarte Kokken, ohne Sporenbildung, Grampositiv. Sie wuchsen auf Agar und Kartoffel als runde, fettglänzende, erhabene Kolonieen aus. Beim Abstechen zog die Kolonie Faden, Gelatine wurde nicht verflüssigt, Gas und Indol nicht gebildet. Milch nicht geronnen, reagierte sauer. 5) Grampositive Diplokokken.

Rectum: Reagierte schwach sauer. 1) Bact. coli comm. + Indolbildung. 2) Milchsäurestäbchen und verflüssigende Mikrokokken, waren sämtlich nur spärlich ausgewachsen.

Hamster IX.

Vormagen: Reagierte schwach sauer. 1) Bact. „Güntheri". 2) Bact. coli comm. 3) Sproßzellen. 4) Bact. lactis aërogenes. 5) Bac. subtilis. 6) Verflüssigende Mikrokokken. 7) Beweglicher Bacillus in Scheinfäden.

Drüsenmagen: Reaktion sauer. 1) Bact. coli comm. mit Indolbildung. 2) Milchsäurebacillen. 3) Verschiedene Heubacillenarten. 4) Sarcina lutea. 5) Eine goldgelbe Sarcina, nicht verflüssigend.

Duodenum: Reaktion sauer. 1) Bact. coli comm. mit starker Indolbildung. 2) Bac. mycoides. 3) Micrococcus tetragenus. 4) Bact. Güntheri.

Caecum: Reaktion amphoter. 1) Ein Bacillus, welcher kulturell dem Bac. gasoformes pyogenes sehr nahe stand. Derselbe war kurz, mit abgerundeten Enden, die Kolonieen wuchsen maulbeerartig granuliert aus, ähnlich den Typhuskolonieen. Auf Agar und Kartoffel gelblich graue, etwas erhöhte Beläge. Das Stäbchen bildete keine Sporen, war gramnegativ, sehr lebhaft beweglich. Gelatine wurde nicht verflüssigt, in Traubenzuckerbouillon etwas Gasbildung, Milch gerann langsam. 2) Bac. Megatherium. 3) Diplokokken grampositiv, nicht verflüssigend. 4) Trommelschlägelformen, wahrscheinlich Anaërobier, gingen beim Züchten verloren. 5) Beweglicher Bacillus in Scheinfäden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Colon: Reaktion schwach alkalisch. 1) Bact. coli comm., meist ohne Indolbildung. 2) Bac. mesentericus vulgatus. 3) Verschiedene Heubacillenarten. 4) Eine farblose Sarcina, Gelatine nicht verflüssigend. 5) Eine Proteus-Art.

Rectum: Reaktion amphoter. Nur sehr wenig Wachstum, die Inhaltsmasse war vertrocknet. 1) Bac. liodermes, bewegliche grampositive Stäbchen, welche Gelatine verflüssigten, wobei sich im Reagenzglas eine weiße, schwimmende Haut gebildet hatte. 2) Bact. coli comm. ohne Indolbildung. 3) Verflüssigende Kokken.

b) Bei Fleischfütterung.

Hamster X.

Vormagen: Reaktion schwach sauer. 1) Bact. coli comm. mit und ohne Indolbildung. 2) Bact. Güntheri. 3) Hefezellen. 4) Bact. lactis aërogenes.

Drüsenmagen: Reaktion stark sauer. 1) Bact. coli com. mit Indolbildung. 2) Verflüssigende Kokken (sehr viele). 3) Sarcina lutea. 4) Bac. pseudosubtilis.

Duodenum: Reaktion sauer. 1) Bact. coli comm. mit Indolbildung vorherrschend. 2) Ein Bacillus, grampositiv, eigenbeweglich, besonders gut auf Gelatine ausgewachsene Kolonieen, blätterartig mit ausstrahlenden Figuren. Die Kartoffel war von einem schmierigen Belag völlig überzogen, hatte einen widerlichen Geruch. Die Gelatine wurde schnell verflüssigt. Die Milch gerann sehr langsam, im Traubenzucker bildete er schwach Gas (nicht nachweisbar).

Rectum: Reaktion schwach sauer. 1) Bact. coli comm., mit Indolbildung. 2) Bac. subtilis. 3) Verflüssigende Kokken.

Hamster XI.

Vormagen: Reaktion amphoter. 1) Schimmelpilzkolonieen. 2) Bact. coli comm. 3) Bact. Güntheri. 4) Bac. acidi lactici Hüppe. (Sporen bildend.)

Drüsenmagen: Reaktion sauer. 1) Bact. coli comm. mit Indolbildung. 2) Micrococcus tetragenus. 3) Sporenbildende Milchsäurestäbchen. 4) Sarcina.

Caecum: Reaktion schwach sauer. 1) Bact. coli comm. mit und ohne Indolbildung. 2) Verschiedene Heubacillenarten. 3) Sehr lange, schlanke Bacillen. Unbeweglich. Sie bildeten auf Kartoffeln gelbe Beläge. Die Agar- und besonders die Gelatinekolonieen sahen wie Insekten aus. Dieser Bacillus könnte mit dem Bacillus multipediculus identisch sein.

Colon: Reaktion schwach sauer. 1) Verflüssigende Mikrokokken. 2) Bact. coli comm. mit Indolbildung. 3) Pseudoheubacillen. 4) Eine farblose Sarcina, Gelatine verflüssigend.

Rectum: Reaktion schwach sauer. Die geringe Inhaltsmasse war ganz vertrocknet. 1) Bact. coli comm. positive Indolbildung.

II. Untersuchung auf Anaërobier.

Die besonders in letzter Zeit immer mehr erkannte große Bedeutung der anaëroben Bacillen für die Eiweißfäulnis veranlaßte uns, ganz besondere Sorgfalt auf die Ermittelung solcher Mikroben in der Flora des Hamsterverdauungsschlauchs zu verwenden. Besonders fahndeten wir auf die unbeweglichen Bacillen der Buttersäuregruppe, unter denen man die typischen Erreger der Eiweißfäulnis suchen muß. Diese läuft zwar bei den Tieren mit einhöhligem Magen in der Hauptsache im Enddarm ab, bei Tieren mit mehrhöhligem Magen, wie den Wiederkäuern, aber auch in den Vormägen. Da der Hamster, wie in den einleitenden Worten erwähnt, infolge seines vom Drüsenmagen scharf getrennten Vormagens eine Mittelstellung zwischen Wiederkäuern und Tieren mit einhöhligem Magen einnimmt, habe ich nicht nur den Enddarminhalt, sondern auch den des Vormagens und der andern proximalen Darmabschnitte auf die genannten obligaten Anaërobier untersucht. Die neben diesen nachweisbaren Kolonieen anderer, z. B. fakultativ anaërober Arten wurden, soweit sie nicht besonderes Interesse beanspruchten, nicht weiter untersucht.

Von den obligaten Anaërobiern gelang es, verschiedene Formen nachzuweisen und zu isolieren. Auf eine Identifizierung derselben mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schon bekannten Arten wurde, da die Angaben in der Literatur gerade hierüber noch sehr lückenhaft sind, und dieses Gebiet bekanntlich noch sehr der systematischen Forschung bedarf, verzichtet. Auch wollte es uns scheinen, daß verschiedene der gezüchteten Bakterienstämme von den in der Literatur beschriebenen Arten nicht unwesentlich abwichen, und daß oft durch geringe Eingriffe (Umstechen, Veränderung des Nährbodens) wesentliche Veränderungen der morphologischen Eigenschaften der Mikroben bewirkt wurden, wie dies bei diesen Bakterien vielfach beobachtet worden ist. Aus diesen Gründen sind nur bei einigen Stämmen die von früheren Autoren für die den unseren sehr ähnelnden Stämme gewählten Namen angeführt worden. Ob diese Benennungen die richtigen sind, lassen wir dahingestellt. Sie sind für die Zwecke unserer Untersuchung auch belanglos; unsere Untersuchung hatte, wie nochmals betont sei, nur den Zweck, die An- oder Abwesenheit anaërober Fäulniserreger im Magen-Darmkanal des Hamsters festzustellen.

Methodik. Zur Züchtung benutzten wir die bekannten Nährböden, in welche das Material in hohe Schicht eingetragen wurde und der Luftabschluß durch Zugießen mit Agar bewirkt wurde. Ferner züchteten wir auf Platten im Botkinschen Apparat. Mit Hilfe dieser Methoden gelangten wir jedoch nicht zum Ziel, es gelang uns zwar eine ganze Anzahl fakultativer Anaërobier nachzuweisen, sowie auch die Anwesenheit der genannten Bacillen der Buttersäuregruppe mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit festzustellen, aber eine sichere Isolierung und Züchtung derselben konnte nicht erreicht werden. Letzteres gelang erst, als wir uns der in letzter Zeit von Passini[1][2]) beschriebenen, mit großem Erfolge zu gleichen Zwecken angewandten Methodik der Züchtung auf Eiereiweiß anschlossen. Wir verfuhren dazu folgendermaßen:

Reagenzgläser wurden mit etwa je 15 ccm geschlagenem Eiereiweiß gefüllt, in ein Wasserbad gestellt und darin zur Koagulation gebracht. Die Gläser wurden dann 40 Minuten bei 3 Atmosphären Druck im Autoklaven sterilisiert, wobei sich das Eiweiß etwas bräunlich färbte und ein blasiges Aussehen gewann. Vor der Verwendung des so vorbereiteten Eiweißes für Kulturzwecke wurde in jedes Gläschen soviel Bouillon ohne Pepton (10 g Liebigs Fleischextrakt, 5 g NaCl zu 1000 H_2O schwach alkalisch mit Na_2CO_3) gegeben, daß das Eiereiweiß etwa 1 Finger breit davon überschichtet war, und die Gläschen 1 Stunde im Wasserbad gekocht. Nach dieser Vorbereitung fand die Impfung in das Eiereiweiß statt, nach welcher dann die Röhrchen sofort anaërob (mit Watte, Pyrogallol, NaOH und Paraffin) verschlossen wurden. Nach 2- bis 3-tägigem Aufenthalt im Brütofen bei 37° zeigte sich bei positivem Ausfall des Versuches eine ziemliche Veränderung der Kulturen, das Eiweiß war schleimig verflüssigt, von gläsernem Aussehen und mit Gasblasen bedeckt; beim Eröffnen solcher Reagenzgläser entströmte denselben jener üble Geruch, welcher infolge der Eiweißfäulnis auftritt.

Die Gewinnung des Impfmaterials und die Ausführung der Impfung erfolgte folgendermaßen:

Den noch lebenswarmen Magen-Darmabschnitten wurde unter sterilen Kautelen Ausgangsmaterial entnommen, welches teils frisch per Oese dem Eiweißnährboden einverleibt, teils vorher in möglichst großer Menge (bei zu geringer Menge des Darminhaltes, wie es meist beim Rectum war, in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert bei 70° 15 Minuten pasteurisiert wurde. Am 3. bezw. 4. Tage, während welcher Zeit die Gläser bei 37° im Thermostaten verweilten, erfolgte die nähere Prüfung.

Diese erstreckte sich auf:

1) Art und Weise der Nährbodenveränderung.
2) Prüfung auf Säurebildung.

---

1) Passini, Ueber das regelmäßige Vorkommen der verschiedenen Typen der streng anaërobischen Buttersäurebakterien im normalen Stuhle. (Jahrb. f. Kinderheilk. N. F. Bd. 57. 1901. Heft 1. p. 87). — Ueber fäulniserregende anaërobe Bakterien des normalen menschlichen Darmes und ihre Bedeutung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 49. 1905. p. 135.)

2) Herr Passini hatte die große Liebenswürdigkeit, mich brieflich über die Ausführung seiner Methode und besonders über viele wichtige Einzelheiten derselben zu unterrichten. Er verpflichtete mich hierdurch zu großem Danke, den auszusprechen mir hier an dieser Stelle ein aufrichtiges Bedürfnis ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Betrachtung der Bakterien im hängenden Tropfen.
4) Betrachtung der gefärbten Bakterien.

Nach dieser Voruntersuchung wurde versucht, die einzelnen Bakterienstämme zu isolieren, um sie später, nach erneuter Impfung auf die zur Differentialdiagnose nötigen Nährmedien identifizieren zu können. Zur Isolierung wurden zwei Wege eingeschlagen. Aus der ersten Eiereiweißkultur wurde auf 4 Reagenzgläser mit gewöhnlichem Nähragar + $^1/_2$ Proz. Traubenzucker, übergeimpft und Plattenkulturen davon angelegt, welche in den Botkinschen Apparat gestellt wurden, in dem der Sauerstoff durch alkalische Pyrogallollösung absorbiert wurde.

Da aber bei diesem Verfahren häufig gerade die Kulturen der obligaten Anaërobier zugrunde gingen, wurde 2. aus der ersten Eiereiweißkultur in neuen Eiereiweißröhrchen Reinkulturen anzulegen versucht.

Ergebnisse der Untersuchung.

Hamster No. XI.

Vormagen: Reaktion stark alkalisch.

Nicht pasteurisiert: Das Eiweiß war völlig unter stinkender Fäulnis zersetzt. Die Ursachen waren Anaërobier, große dicke Bacillen mit lebhafter Eigenbewegung und meist endständigen, wenig mittelständigen Sporen. Bei der Durchführung durch Zuckeragar verlor der Bacillus die Eigenschaft Eiweiß faulig zu zersetzen.

Pasteurisiert: Das Eiweiß war dunkelbraun verfärbt und unter Fäulnis zersetzt. Im Plattenverfahren (Traubenzuckeragar) konnten 2 anaërobe Stämme reingezüchtet werden. Sie wurden auf Eiweiß neu überimpft.

Stamm 1. Ein unbewegliches, grampositives Stäbchen mit mittelständigen Sporen dick aufgetrieben, wenn sporenlos, war es sehr fein. Der Bacillus zersetzte Eiweiß zu einer übelriechenden, jaucheartigen Masse.

Stamm 2. Grampositive, sporenlose, dicke, unbewegliche, lediglich Molekularbewegung zeigende Bacillen, die das Eiweiß nicht mehr unter stinkender Fäulnis zersetzten, sondern nur eine Auflockerung durch Gasblasen bewirkten. Vielleicht ist dieser Bacillus identisch mit dem unbeweglichen Buttersäurebacillus von Grassberger und Schattenfroh.

Drüsenmagen: Reaktion schwach sauer.

Nicht pasteurisiert. Das Eiweiß war nicht angegriffen. Außer gramnegativen und beweglichen Colibakterien war darin nichts nachzuweisen.

Pasteurisiert. Eiweiß war von Gasblasen durchsetzt, zeigte aber keine stinkende Fäulnis. Es fanden sich viel gramnegative, leicht bewegliche Stäbchen. Gelatine verflüssigende Kokken und grampositive Bacillen. Hieraus ließ sich durch erneutes Ueberführen in Eiweiß ein obligater anaërober, aber nicht typische Fäulnis erregender Buttersäurebacillus züchten. Es waren dicke, lange, bewegliche Bacillen mit Köpfchensporen, auch viel zarte, junge Bacillen und freie Sporen. Der Bacillus war gekörnt, sah mehrfach aus, als ob er aus lauter Körnchen bestände. Jodlösung bewirkte nur Braunfärbung, vielleicht lag hier der Bacillus saccharobutyricus mob. Grassberger und Schattenfroh vor.

Dünndarm: Reaktion schwach sauer.

Nicht pasteurisiert. In dem kaum veränderten Eiweißröhrchen fanden sich nur verflüssigende, bewegliche Kokken und Bact. coli comm. vor.

Pasteurisiert. Eiweiß schmierig angegriffen, die obere Schicht von ca. 1 cm bildete eine bernsteinfarbige, gummifeste Masse, die Kultur roch nach Ammoniak. Es fanden sich bewegliche, sporenbildende Bacillen mit deutlicher Kapsel, die Eiweiß nicht angriffen und wohl zur Subtilis-Gruppe gehörten, ferner unbewegliche, sporenlose grampositive Stäbchen und freie Sporen. Letztere riefen, abermals in Eiweiß übertragen, eine geringe Veränderung unter Bildung einer dunkelgelben festen Decke und Ammoniakentwickelung hervor. Sie verflüssigten Gelatine, bildeten auf Agar und Kartoffel braune Kolonieen, und erwiesen sich identisch mit Bac. mesentericus fuscus.

Jejunum: Reaktion schwach sauer.

Nicht pasteurisiert. Das Eiweiß roch nach starker Fäulnis, war aber nur schwach angegriffen. Viel gramnegative Stäbchen, Kokken und ein dem Proteus nahestehender Bacillus.

Pasteurisiert. Eiweiß schmierig angegriffen, Farbe unverändert. Verschiedene Stäbchen mit und ohne Beweglichkeit, auch freie Sporen und Kokken. Es konnte darunter wieder der Bac. mesent. fusc. nachgewiesen werden, aber keine obligaten Anaërobier.

Ileum: Reaktion schwach sauer.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nicht pasteurisiert. Das Eiweiß war bis zur Hälfte in eine homogene, feste, bernsteinfarbige Masse verwandelt, wobei Ammoniakabspaltung eingetreten war. Es fand sich auch hier Bac. mesentericus fuscus und ferner Bac. coli comm.

Pasteurisiert. Eiweiß unverändert.

Caecum: Reaktion schwach alkalisch.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß unter stinkender Fäulnis völlig zersetzt. Hieraus ließen sich lebhaft bewegliche grampositive schlanke Bacillen züchten, die nach Zuckerpassage in Eiweiß keinerlei Fäulniserscheinung mehr hervorbrachten. Hier lag also ein anaërober Fäulniserreger (vielleicht Paraputrificus) vor. Außerdem fanden sich grampositive, molekularbewegliche, große Diplokokken, die Eiweiß nicht veränderten.

Pasteurisiert. Eiweiß völlig zersetzt und übelriechend. Es fanden sich darin verschiedene Stäbchen mit und ohne Eigenbewegung, manche mit endständigen Sporen, freie Sporen und Diplokokken. Erneute Eiweißkulturen nach der Zuckerpassage ergaben völlige Zersetzung des Eiweißes unter putridem Geruch durch das feine, lebhaft bewegliche Stäbchen mit meist endständigen, selten mittelständigen Sporen, einem anaëroben Fäulniserreger. 1) Bac. putrificus Bienstock. 2) Die Diplokokken hatten das Eiweiß nicht angegriffen.

Colon: Reaktion amphoter.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß unverändert. Hier fanden sich gramnegative, schwach bewegliche Bacillen, oft zu langen Scheinfäden gelagert. Da sie keinerlei Fäulnis hervorriefen, wurden sie nicht genauer untersucht.

Pasteurisiert. Das Eiweiß war meist in Fäulnis übergegangen, enthielt aber viel Gasblasen und roch säuerlich. Es waren verschiedene Bacillenarten ausgewachsen. Im erneuten Eiweiß ließ sich der schon oben sub Caecum nicht pasteurisiert beschriebene, wohl mit Bac. paraputrificus identische Bacillus nachweisen, es waren lebhaft bewegliche grampositiv schlanke Stäbchen. Außerdem fand sich nach dem Beijerinckschen Verfahren angereichert der oben sub Drüsenmagen pasteurisiert beschriebene Bacillus, der wohl mit dem Saccharobutyricus mob. von Grassberger und Schattenfroh identisch ist.

Rectum: Reaktion amphoter.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß unverändert, nur spärliches Wachstum von beweglichen gramnegativen Stäbchen; Kokken und Diplokokken.

Pasteurisiert. Kein Wachstum.

Hamster XII.

Vormagen: Reaktion schwach alkalisch.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß etwas erweicht, nicht faulig zersetzt. Deshalb nicht weiter untersucht.

Pasteurisiert. Fast das ganze Eiweiß zu schmutziger jauchiger Flüssigkeit zersetzt. Es fand sich ein feines Stäbchen mit Köpfchensporen, leicht beweglich, es war durch Zuckerpassage nicht denaturierbar und dürfte wohl als Bac. putrificus Bienstock angesprochen werden.

Drüsenmagen: Reaktion sauer.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß wenig verändert, durch bewegliche gramnegative Coli-Bakterien, die nicht näher untersucht wurden.

Pasteurisiert. Eiweiß wenig verändert, nicht faulig. Hier waren große Bacillen mit deutlicher Kapselbildung, grampositiv, die sich als Heubacillen erwiesen, und grampositive Diplokokken ausgewachsen.

Duodenum, Jejunum und Ileum: Reaktion sauer. Die Untersuchung auf Anaërobier verlief stets negativ.

Caecum: Reaktion alkalisch.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß sehr hellfarbig geworden und bröckelig, fast geruchlos. Es fanden sich Diplokokken und grampositive große Stäbchen. Erneute Verimpfung gab wieder keine Fäulnis des Eiweißes.

Pasteurisiert. Eiweiß grau, jauchig zersetzt und übelriechend, sehr reich an verschiedenen Bakterienformen. Erneute Eiweißkulturen ergaben nach Zuckerpassage in dem einen Röhrchen völlige Fäulnis durch den schon im pasteurisierten Vormageninhalt gefundenen und oben unter Hamster XI Caecum pasteurisiert beschriebenen Bacillus (wohl Bac. putrificus Bienstock). Außerdem fand sich ein zweiter Anaërobier: Große sporenbildende, lebhaft bewegliche Bacillen, welche das Eiweiß blasig aufgelockert hatten. Einige Bacillen zeigten deutliche Körnelung, manche waren dick und rundlich und zeigten Clostridienform, diese färbten sich mit Jodlösung bräunlich bis violett. Kulturell große Aehnlichkeit mit dem beweglichen Buttersäurebacillus.

Diplokokken, welche in Reinkultur auswuchsen, vermochten das Eiweiß nicht anzugreifen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Colon: Reaktion amphoter.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß wenig verändert. Hierin befanden sich kokkenähnliche, kurze Bacillen, Diplokokken und grampositive zarte Bacillen. Der zarte Bacillus erzeugte erneut im Eiweiß eine kleine Veränderung bei üblem Geruch, er gehörte zur Proteusgruppe. Die anderen Mikroben veränderten Eiweiß nicht und wurden deshalb nicht weiter verfolgt.

Pasteurisiert. Eiweiß schmierig verändert, übelriechend, fast nur von freien Sporen und wenigen zarten, beweglichen grampositiven Bacillen bewachsen. Diese Bacillen waren einzeln und oft zu mehreren verbunden. Einige zeigten Granuloseinhalt, nach Zusatz von Jodlösung färbten sie sich gelb bis bräunlich. Sie riefen, als Reinkultur erhalten, nach Zuckerpassage wieder Fäulnis hervor und dürften ebenfalls mit einer anaëroben Fäulnisform den Buttersäurebacillen identisch sein.

Rectum: Reaktion amphoter.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß blieb unverändert. Es befanden sich hier fast ausschließlich gramnegative, bewegliche Bacillen, welche ich für Coli-Bakterien hielt Da keinerlei Fäulnis eintrat, wurde von weiterer Untersuchung abgesehen.

Pasteurisiert. Negativer Ausfall.

Hamster XIII.

Vormagen: Reaktion stark alkalisch.

Nicht pasteurisiert. Das Eiweiß war unter putridem Geruch stark zersetzt, ließ also die Anwesenheit anaërober Fäulniserreger vermuten, in der Tat gelang es neben einem nicht Fäulnis erregenden gramnegativen Bacillus nach der Zuckerpassage einen Fäulniserreger zu isolieren. Es waren bewegliche, sehr lange Bacillen mit endständigen Sporen und Körnelung, die sich mit Jodlösung bräunlich färbten. Mit dem Beijerinckschen Verfahren geprüft, zeigten sie sich identisch mit dem oben schon mehrfach beschriebenen beweglichen Buttersäurebacillus.

Außerdem waren hier die langen Streptothrix-artigen Fäden in der stark zersetzten Eiweißkultur, die ich bei der Untersuchung auf Aerobier als „Beweglichen Bacillus in Scheinfäden" bezeichnet habe, ausgewachsen. Auf der Platte konnten sie zwar rein gezüchtet werden, aber ihre anfangs enorme Länge und die äußerst schnelle Beweglichkeit waren zurückgegangen. Im anaëroben Gelatineröhrchen waren sie noch nach Wochen genau so typisch, wie im Ausgangsmaterial, auch in physiologischer Kochsalzlösung + Gelatine lebten die Bacillen gut weiter, die Gelatine wurde nicht vom Stichkanal ausgehend, sondern schichtweise von oben nach unten verflüssigt. Unten blieb die noch feste Gelatine stets klar, während die verflüssigte an der Oberfläche trüb, wolkig war. Von solch einer typischen Kultur verimpfte ich eine Oese in einen Kolben + 50 ccm unseres Eiereiweißnährbodens, der genau wie die Reagensglaskulturen vorbereitet und verschlossen wurde. Nach 4 Wochen war das Eiweiß völlig unter Fäulnis zersetzt und massenhaft von den längsten Fäden bewachsen. Die Bacillen trugen teilweise endständige Sporen, welche mittelständig erschienen, wenn die Bacillen in Scheinfäden auftraten. Bei der Zuckerpassage erwiesen sich diese Fadenbacillen als denaturierbar, das Vermögen, aufs neue Eiweiß in Fäulnis zu zersetzen, war verloren gegangen. Auf Grund dieser Befunde möchte ich den beweglichen Bacillus in Scheinfäden auch als Fäulnisform eines anaëroben Buttersäurebacillus ansprechen.

Pasteurisiert. Das Eiweiß war faulig zersetzt und gestattete den im nicht pasteurisierten Impfmaterial aufgefundenen beweglichen Anaërobier wieder zu züchten. Im Beijerinckschen Verfahren gezüchtet, hatte der Bacillus viel Säure und Gase gebildet, die hieraus entnommenen jungen sporenlosen Stäbchen griffen das Eiweiß erneut unter Fäulnis an, und sporulierten wieder.

Caecum: Verloren gegangen.

Colon: Reaktion amphoter.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß etwas angegriffen, Geruch nach Abfallgrube. Es fanden sich darin Diplokokken und bewegliche sporenlose grampositive Stäbchen, die sich als eine Proteus-Art erwiesen; sie wuchsen erneut im Eiweiß, unter üblem Geruch, bei wenige Veränderung, aus. Die Diplokokken vermochten keine Eiweißveränderung hervorzubringen.

Pasteurisiert. Eiweiß unter putridem Geruch sehr zerstört, hieraus ließen sich in Reinkultur zwei anaërobe Fäulniserreger züchten: 1) der schon im Vormagen aufgefundene bewegliche Buttersäurebacillus. Ein leicht bewegliches aufgequollenes, oft auch zartes Stäbchen und viel freie Sporen; nach der Zuckerpassage wieder in Eiweiß verimpft, hatte es erneut Fäulnis mit Zersetzung hervorgerufen. 2) Ein größeres gekörntes Stäbchen mit lebhafter Eigenbewegung,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

welches nach der Zuckerpassage die Fähigkeit, Eiweiß in Fäulnis zu versetzen, verloren hatte.

Außerdem war hier wieder der „Bewegliche Bacillus in Scheinfäden" ausgewachsen. Es fanden sich aber nur wenig Fäden, die nicht reingezüchtet werden konnten, sondern verloren gingen.

Hamster XIV.

Vormagen: Reaktion schwach alkalisch.

Nicht pasteurisiert. Das Eiweiß war nur wenig, aber unter üblem Geruch (nicht typische Fäulnis) zersetzt. Unter den verschiedenen Bakterien, die sich vorfanden, zersetzte außer einem Proteus kein Stamm Eiweiß.

Pasteurisiert. Eiweiß angegriffen schmierig, Fäulnisgeruch. Es fanden sich darin ein Diplococcus und Stäbchen. Der erstere vermochte in Reinkultur das Eiweiß nicht anzugreifen. Das Stäbchen, welches anfangs Eiweiß zersetzte, verlor nach der Zuckerpassage die Fähigkeit, Eiweißfäulnis hervorzubringen. Diese Stäbchen waren mittelgroß, hatten abgerundete Kanten und waren meist zu zweien miteinander verbunden. Bei Fuchsinfärbung war eine zarte Hülle gut kenntlich. Der Bacillus war grampositiv. Auf Zuckeragar gebracht, bildete er Blasen, welche unter länglichen graugefärbten Kolonieen den Nährboden emporhoben, beim Abstechen zog die Kolonie etwas Faden. Sporen bildete der Bacillus hier nicht. Dieser anaërobe Fäulniserreger stand wohl dem Gasphlegmonebacillus nahe.

Caecum: Reaktion alkalisch.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß nur etwas schmierig verändert, übler Geruch, dunkelgelb verfärbt, in der Kuppe des Gläschens Blasenbildung. Granulierte Bacillen meist unbeweglich, Clostridienform, auch endständig sporulierend; sie gingen im Plattenverfahren verloren, dort fand sich nur Proteus und Bac. pyocyaneus.

Pasteurisiert. Es fand sich der beim Vormagen soeben beschriebene anaërobe Fäulniserreger, im angegriffenen, übelriechenden Eiweiß wieder.

Colon: Reaktion amphoter.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß wenig verändert, aber doch etwas faulig riechend. Es konnten daraus keine anaëroben Fäulniserreger gezüchtet werden. Wohl fanden sich aber Kokken und Diplokokken, auch manchmal Streptokokkenformen und verschiedene Bacillen. Auf der Platte wuchsen nur der Wurzelbacillus und der Diplococcus aus.

Colon: Reaktion schwach alkalisch.

Pasteurisiert. Eiweiß unter stinkender Fäulnis zersetzt. Es fanden sich nur große grampositive unbewegliche Stäbchen. Nach der Zuckernährbodenpassage vermochten sie das Eiweiß nicht wieder zu zersetzen. Es lag hier der schon oben Hamster No. XI Vormagen beschriebene unbewegliche Buttersäurebacillus vor.

Rectum: Reaktion schwach sauer.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß nur erweicht, kein fauliger Geruch. Gefunden wurden bewegliche gramnegative Bacillen (Bact. coli comm.) und Gelatine verflüssigende Kokken, aber keine Fäulniserreger.

Pasteurisiert. Eiweiß unverändert, es fanden sich nur wenige Diplokokken darin vor.

Hamster No. XV.

Vormagen: Reaktion alkalisch.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß minimal verändert, etwas bröckelig. Es fanden sich zugespitzte gramnegative Bacillen und Heubacillen vor. Da keine Eiweißfäulnis vorhanden war, wurde nicht weiter gezüchtet.

Pasteurisiert. Das Eiweiß war unter typischer Fäulniserscheinung in eine schmierige Masse aufgelöst. Es fanden sich anaërobe Fäulniserreger, in ihren morphologischen Eigenschaften etwas unterschiedlichen Formen, die wohl aber einem Bacillus angehörten. 1) Grampositive, Granulose bildende schlanke Stäbchen; 2) viele Stäbchen mit Köpfchensporen und 3) andere in Clostridienformen mit mittelständigen Sporen, es lagen auch oft zwei Bacillen aneinander, ungefähr wie Hanteln. Die Jodreaktion war bei allen Formen negativ ausgefallen. In den nach der Zuckerpassage angelegten neuen Eiweißkulturen zeigte sich dasselbe Bild, und typische Fäulnis war wiederum eingetreten.

Drüsenmagen: Reaktion sauer, nicht pasteurisiert. Eiweiß etwas heller und bröckelig geworden, aber keine Fäulnis. Es fanden sich verschiedene Bacillen und Sarcina, aber keine Fäulniserreger vor.

Pasteurisiert. Das Eiweiß war wenig verändert. Es fanden sich gramnegative, bewegliche Stäbchen, freie Sporen, Diplokokken und Kokken, die aber auch in Reinkultur keine Eiweißfäulnis bewirkten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Duodenum: Reaktion schwach sauer.

Nicht pasteurisiert. Eiweißoberfläche erweicht und schwacher Fäulnisgeruch vorhanden. Dieser war, wie weitere Untersuchung ergab, durch Proteus vulgaris entstanden.

Pasteurisiert. Verloren gegangen.

Jejunum: Reaktion schwach sauer.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß kaum verändert, roch scharf bitterlich; da keinerlei Fäulnisanzeichen vorhanden waren, wurden die Bakterien nicht weiter verfolgt.

Pasteurisiert. Eiweiß schmierig angegriffen, keine stinkende Fäulnis, roch etwas nach Ammoniak. Es fanden sich Heubacillen, unbewegliche Diplokokken und wenige grampositive bewegliche Stäbchen, die identisch mit dem oben Hamster X genauer beschriebenen Bac. mesentericus fuscus waren.

Ileum: Reaktion schwach sauer.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß bernsteinfarbig, die obere Schicht, gleichmäßig fest, zeigte Ammoniakgeruch (Bac. mesentericus fuscus), aber keine Fäulnis.

Pasteurisiert. Auch hierin fand sich nur Bac. mesentericus fuscus unter den mehrfach geschilderten Erscheinungen.

Caecum: Reaktion amphoter.

Nicht pasteurisiert. Das Eiweiß war unverändert, fast geruchlos und enthielt massenhafte gramnegative, bewegliche Bacillen, die sich als Bact. coli comm. erwiesen. Daneben wuchsen Gelatine verflüssigende Kokken und eine Sarcina.

Pasteurisiert. Eiweiß stark unter Fäulnis angegriffen, von Gasblasen durchsetzt: viel verschiedene Bakterien und Diplokokken. Rein konnte ich im Beijerinckschen Verfahren bei starker Säure- und Gasbildung, die schon oben mehrfach beschriebenen, sporulierend beweglichen Buttersäurebacillen finden. Zweitens ein feines, Köpfchensporen tragendes grampositives Stäbchen, welches nach der Zuckerpassage keine Eiweißfäulnis hervorbrachte. Identisch mit dem oben als Bac. paraputrificus angesprochenen Anaërobier.

Colon: Reaktion schwach sauer.

Nicht pasteurisiert. Eiweiß unverändert. Es fanden sich Diplokokken und Kokken in Tetraden angeordnet vor, auch gramnegative Bacillen; wegen negativem Ausfall für Eiweißfäulnis nicht weiter gezüchtet.

Pasteurisiert. Eiweiß unter fauligem Geruch vollständig zersetzt. Es fanden sich viele verschiedene Arten von Mikroben vor. Unbewegliche gramnegative Stäbchen mit Granulose-Inhalt, welche bräunlich auf Jod reagierten. Bewegliche Bacillen mit Köpfchensporen und Diplokokken. Nach der Zuckerpassage war das unbewegliche Stäbchen denaturiert, während der Köpfchensporen tragende bewegliche Bacillus (Bac. putrificus) aufs neue starke Eiweißfäulnis hervorbrachte.

Rectum: Reaktion amphoter.

Nicht pasteurisiert. Im unveränderten Eiweiß fanden sich Coli- und Heubacillen vor.

Pasteurisiert. Eiweiß ebenfalls unverändert, es fanden sich darin Heubacillen und Diplokokken.

Schlußbetrachtung.

Bei unseren Untersuchungen, deren Hauptaufgabe darin bestand, die physiologische Bakterienflora des Verdauungstraktus von Cricetus frumentarius kennen zu lernen, zeigte sich, daß besonders der Magen (Vormagen und Drüsenmagen) und das Caecum eine sehr artenreiche Bakterienflora beherbergen.

Was die Aërobier anlangt, so treten uns neben zahlreichen „fakultativen" Arten in Magen und Dünndarm als „obligate" Darmbewohner besonders Kohlehydratvergärer, in erster Linie Bact. Güntheri, entgegen, neben denen Bact. coli comm. und Bact. lactis aërogenes regelmäßig angetroffen werden. Im Enddarm (Dickdarm) tritt unter diesen Arten Bact. coli comm. in den Vordergrund, während Bact. lactis aërogenes und Bact. Güntheri mehrfach nicht aufgefunden werden konnten. Bemerkenswert erscheint uns, daß die Fütte-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rung von Fleisch die obligate Darmflora nicht wesentlich veränderte. Bezüglich der genannten Bakterienarten besteht eine gute Uebereinstimmung mit den von Ankersmit[1]) bei den Wiederkäuern gemachten Befunden, wonach Bact. Güntheri neben den anderen Coli-Arten dort regelmäßig und vorherrschend anzutreffen ist.

Die Untersuchung auf Anaërobier ergab die regelmäßige Anwesenheit solcher zur Gruppe der Buttersäurebacillen gehörigen Eiweißfäulniserreger (z. B. Bac. putrificus Bienstock u. a.) im Vormagen, Caecum und Colon, während im Drüsenmagen und Dünndarm diese Bacillen regelmäßig vermißt wurden. Auch im Rectum konnten wir dieselben nicht finden, doch dürfte an letzterem Ergebnis vielleicht auch das Ausgangsmaterial, welches trocken, krümelig und für die Verarbeitung von ungünstiger Beschaffenheit war, schuld gewesen sein. Jedenfalls sind die anaëroben Fäulniserreger zur obligaten Flora von Vormagen, Caecum und Colon des Hamsters zu rechnen. Zwischen der Darmbakterienflora der Wiederkäuer und des Hamsters besteht auch in bezug auf die anaëroben Fäulniserreger Uebereinstimmung.

Die vorliegenden Resultate geben somit eine weitere Stütze für die von Scheunert bezüglich der Funktionen von Hamstervormagen und Vormägen der Wiederkäuer nachgewiesenen Analogie.

Herrn Professor Scheunert, auf dessen Wunsch ich die geschilderten Untersuchungen unternahm und in dessen Laboratorium ich dieselben ausführte, möchte ich auch an dieser Stelle für die rege Anteilnahme und gütige Unterstützung mit Rat und Tat, die er mir während der langdauernden Behandlung dieses Themas in reichstem Maße angedeihen ließ, meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Infektion des Auges durch den Bacillus pyocyaneus.

[Aus der Universitäts-Augenklinik in Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. Th. Axenfeld).]

Von Dr. **Ph. Verderame,** Freiburg i. Br.

Affektionen des Sehorgans durch den Bac. pyocyaneus kommen im ganzen nicht allzu häufig vor und beanspruchen schon deswegen, ganz besonders aber auch wegen ihres zum Teil recht schweren Verlaufes lebhaftes Interesse. Da ich die Gelegenheit hatte, vor einiger

1) Ankersmit, P., Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. p. 477. 574. 689; Bd. 40. p. 100.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeit an der hiesigen Klinik einen solchen Fall zu beobachten, bringe ich ihn hier zur Kenntnis, um so mehr als einige bei ihm gefundene Eigentümlichkeiten dessen Veröffentlichung rechtfertigen dürften.

Die Krankengeschichte ist die folgende:

Müller, Mathias, 40 J. alt, Landwirt aus Mönchweiler bei Villingen, kommt am 5. Sept. 1910 zum Augenarzt (Dr. Münch) mit der Angabe, daß er seit 3 Tagen an einer schmerzlosen, ganz spontan entstandenen Entzündung des linken Auges leide. Es wird dabei folgender Befund erhoben:

Rechtes Auge: Leichtes Tränen, sonst ohne Besonderheit. RS = $^5/_6$; Gl. b. n.

Linkes Auge: Oberlid hängt gerötet und stark geschwollen herab. Enorme Chemose der Conjunctiva bulbi, wobei die Corneaperipherie in einer Breite von 3—5 mm davon bedeckt wird; profuse serös-sanguinolente Sekretion. Conj. palpebrarum mit graugelben dünnen Membranen bedeckt, die leicht abwischbar, auf leicht blutender Unterlage haften.

Cornea, Iris, Vorderkammer ohne Besonderheit. Tränenwege normal. LS. = $^5/_7$; Gl. b. n.

Therapie: Touchieren mit Arg. nitr. und Spülungen mit Sublimat 1 : 6000.

7. Sept. Conjunctiva und Sekretion unverändert. Am oberen Hornhautrand bemerkt man zwei kleine Infiltrate, sonst Befund normal. Atropin, Touchieren mit Arg. nitr., Sublimatauswaschung, Jodoformeinstreuung.

10. Sept. Die zwei Infiltrate sind ulzeriert und haben sich nach beiden Seiten sichelförmig ausgebreitet. Auch am unteren Hornhautrand bemerkt man heute ein breites Infiltrat.

12. Sept. Letzteres ist ebenfalls ulzeriert und breitet sich sowohl nach der Fläche, als auch nach der Tiefe aus. Kleines Hypopyon in der Vorderkammer. Pupille gut erweitert. Chemosis der Conj. bulbi sehr stark ausgebildet; auf der Conj. palpebrarum keine Membranen mehr sichtbar. Sekretion serös-eitrig.

15. Sept. Das untere Ulcus nimmt mehr als die Hälfte der Cornea ein und konfluiert temporal mit der oberen Ulzeration. Das Hypopyon füllt die Vorderkammer fast zur Hälfte. Pupille gut erweitert.

Am 20. Sept. stellt sich Patient in unserer Klinik vor, und es wird folgender Befund erhoben:

Rechtes Auge normal.

Linkes Auge: Lider leicht gerötet und stark geschwellt. Es besteht eine sehr starke Chemose der Conj. bulbi, so daß die Peripherie der Cornea davon überlagert ist, besonders von oben her, und man zunächst nur eine ganz kleine subzentrale, gelbe, mit Eiter bedeckte Partie derselben zu sehen bekommt. Beim vorsichtigen Abheben der chemotischen Bindehaut von der Cornea sieht man die letztere bis auf einen kleinen Saum oben nasal in der Nähe des Limbus, in ein mit nekrotischen, teilweise abgestoßenen Corneallamellen bedecktes, eitriges Ulcus verwandelt, das gegen den Limbus mit steilem Rande abfällt. Der Grund ist eigenartig weißlich und oben außen fleckig, gelbeitrig. Von dem gewöhnlichen Ulcus serpens ist das Bild verschieden, insofern kein progressiver unterminierter Rand zu sehen ist; besonders auffällig ist die lamelläre Abblätterung resp. Nekrose. Mit Rücksicht auf dieses Bild und die ungewöhnliche toxische Reizung der ödematösen Umgebung wurde von Herrn Prof. Axenfeld sogleich die Frage gestellt, ob nicht eine Infektion mit Pyocyaneus vorläge. Ein Hypopyon schimmert deutlich durch und ist etwa 4—5 mm hoch. Fluoresceinprobe positiv. Tränenwege ohne Besonderheit. Visus = Lichtschein; Projektion gut.

In den nach Gram gefärbten Präparaten vom Sekret des Conjunctivalsackes sowie von den vom Ulcus abgeschabten Partieen erkennt man außer reichlichen Eiterzellen kleine, oft zu zweien liegende, gramnegative Stäbchen, die zum Teil intracellulär liegen. Es wird die Wahrscheinlichkeitsdiagnose auf Pyocyaneus gestellt, und es werden Kulturen auf Peptonagar, Blutserum sowie Ascitesagar angelegt.

Patient wird sodann mit Scopolamin sowie Verband an den behandelnden Arzt gewiesen. Der weitere Verlauf, dessen Notizen wir der Güte von Augenarzt Dr. Münch in Villingen verdanken, gestaltete sich folgendermaßen:

23. Sept. Ulzeration seit 2 Tagen stationär. Hypopyon unverändert. Xeroform.

29. Sept. Noch ziemlich starke Chemose der Conj. bulbi. Ulcus hat sich rasch verkleinert. Hypopyon unverändert.

28. Okt. Ulcus epithelisiert; Hypopyon füllt ungefähr ein Drittel der Vorderkammer; hintere Synechien. Immer noch ziemlich starke Chemose der Conj. bulbi.

8. Nov. Untere Hälfte der Cornea stark vaskularisiert. Bindehaut, die nicht mehr so stark chemotisch ist, nach Art eines Pterygiums auf den unteren Teil der Cornea herübergewachsen. Hypopyon noch etwa 2 mm hoch. Dionin.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2. Dez. Bulbus nur noch wenig gereizt. Maculae corneae im oberen Quadranten; im unteren Teil der Cornea ein Leukom. Hypopyon noch nicht ganz resorbiert, erscheint organisiert. Pupillarrand ausgedehnt, mit der Linsenkapsel verlötet. Tension nicht erhöht. Der Visus beschränkt auf Lichtperzeption, Projektion gut.

Die Untersuchung der Originalkulturen ergab folgendes:

Auf Peptonagar entwickelt sich nach 24 Stunden ein üppiger, saftiger Rasen von graugelblicher Farbe; der Nährboden hat eine grünliche, stark fluorescierende Färbung angenommen. Im Kondenswasser ein graulich-weißer, klumpiger Satz.

Auf Blutserum ebenfalls üppiges Wachstum von ähnlichem Aussehen. Der Nährboden zeigt eine ziemlich deutliche Verflüssigung, die in den folgenden Tagen sehr rasch zunimmt.

Wachstum auf Ascitesagar ebenfalls gut, Aussehen ähnlich wie auf Peptonagar.

In allen drei Originalkulturen findet man in den Ausstrichpräparaten die gleichen schlanken Stäbchen in Reinkultur. Sie geben bei dem Gramschen Verfahren ihre Farbe ab, liegen einzeln, zum Teil aber auch zu zwei, und zeigen leicht abgerundete Enden. Sie sind etwa 0,5 μ lang, in älteren Kulturen bis 4 μ und darüber und 0,2 bis 0,3 μ breit. Im hängenden Tropfen zeigen sie sowohl Molekularbewegung, als auch eine sehr lebhafte Eigenbeweglichkeit. Die Färbung nach Loeffler ergab das Bestehen eines geißelartigen Fortsatzes an dem einen Ende der 14 Stunden alten Bacillen. Die Sporenfärbung fiel negativ aus.

Bei weiterer Verimpfung auf Glyzerinagar und Traubenzuckeragar kommt es ebenfalls zu gutem Wachstum, die Farbstoffbildung ist auf diesen beiden Nährböden sowie auf dem folgenden eine besonders intensive.

Im Gelatinestich Wachstum hauptsächlich im obersten Teil des Nährsubstrates, im Stichkanal spärlich. An der Oberfläche bildet sich bald eine graugrüne, muldenförmige Vertiefung, die sich nach der Fläche sowie nach der Tiefe ausbreitet. Nach 5—7 Tagen Nährboden total verflüssigt, intensiv grün fluoreszierend, am Boden des Röhrchens klumpiger graugelblicher Satz.

In Bouillon gedeiht der Bacillus ebenfalls sehr gut, Kahmhautbildung. Nach einigen Tagen Nährflüssigkeit von tiefbrauner Farbe, am Boden des Röhrchens eine graugelbliche, zum Teil schleimige, zum Teil fetzige Masse. Reaktion alkalisch.

Milch im oberen Teil leicht grünlich schimmernd; nach einigen Tagen Koagulation.

Auf Kartoffeln sehr üppiges Wachstum eines schmierigen, grau-bräunlichen Rasens, der in der Folge eine ausgesprochene Rostfarbe annimmt.

Wachstum auch anaërob gut, ebenso bei Zimmertemperatur.

An allen festen Kulturen zeigte sich nach längerem Verweilen im Brutofen ein Uebergang der grün fluoreszierenden Farbe in eine mehr grünlich-braune; dabei fiel die Gegenwart bräunlicher Nadeln in denselben auf. Beim Ausschütteln flüssiger Kulturen mit Chloroform ließ sich ein blaugrüner Farbstoff gewinnen; ebenso konnte man aus festen Kulturen mit Wasser einen grünlichen Farbstoff extrahieren. Auffällig war, daß die Bildung des grün fluoreszierenden Farbstoffes auf festen Kulturen in den späteren Generationen (etwa von der XXVI. an) erst nach einigen Tagen deutlich auftrat. In einer Ascitesagarkultur (XXIX. Generation) fehlte sogar jede Farbstoffbildung.

Stücke fester Kulturen, die mit Salzsäure behandelt wurden, nahmen einen gelblichen Farbenton an, und die Säurelösung fiel durch ihre rötliche Färbung auf.

Es unterliegt nach dem morphologischen sowie kulturellen Verhalten des untersuchten Mikroorganismus wohl keinem Zweifel, daß wir hier den Bacillus pyocyaneus vor uns haben.

Man hat früher auf Grund der bei verschiedenen Stämmen von Pyocyaneus beobachteten Variabilität der Pigmentbildung verschiedene Rassen desselben aufstellen wollen. Aus neueren Untersuchungen [1]) scheint jedoch hervorzugehen, daß der Pyocyaneus stets zwei Farbstoffe produziert, nämlich ein in Chloroform lösliches, blaugrünes Pigment, das Pyocyanin, und ein in Wasser lösliches Pigment, welches grün fluoresziert und chloroformunlöslich ist. Während letzterer Farb-

1) Vgl. Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorgan. Bd. 3. 1903. p. 473 u. ff.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stoff auch von anderen fluoreszierenden Bakterien, z. B. vom Bacillus fluorescens liquefaciens produziert wird, kommt die Pyocyaninbildung nur dem Bacillus pyocyaneus zu und ist daher für ihn charakteristisch. In alten Kulturen kommt es zur Umwandlung des Pyocyanins in ein bräunliches Pigment, von Boland als Pyoxanthose bezeichnet. Wie im kulturellen Teil beschrieben, habe auch ich bei meinem Stamm das Eintreten dieses Vorganges feststellen können. Ebenfalls von Interesse ist die in älteren Generationen bei meinem Stamm beobachtete späte Bildung von Farbstoff, bezw. Ausbleiben derselben auf Ascitesagar.

Diese letzteren Beobachtungen stellen sich an die Seite derjenigen anderer Untersucher, wie z. B. Gessard, Kunz, Badais, Růžička u. a. m.[1]), welche die Farbstoffbildung des Pyocyaneus unter verschiedenen Bedingungen studiert haben und zum Ergebnis gelangt sind, daß dieselbe sich sehr variabel gestalten kann. Daraus geht hervor, daß man auf Grund dieser Unterschiede nicht berechtigt ist, einzelne Varietäten und Rassen des Pyocyaneus aufzustellen.

Außer der Farbstoffbildung kommt dem Pyocyaneus bekanntlich auch das Vermögen zu, Toxine zu bilden. Meine daraufhin gerichteten Tierversuche waren folgende:

I. Versuch. Intraperitoneale Injektion von 0,8 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur bei einer weißen Maus. Exitus nach 36 Stunden. Sektion: Innere Organe, besonders die Milz, stark hyperämisch und vergrößert. Im Herzblut sowie in der Milz Pyocyaneus, Kulturen aus Herzblut positiv.

Kleinere Dosen als die obige erwiesen sich unwirksam.

II. Versuch. Subkutane Einbringung von 0,4 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur beim Meerschweinchen führte zu Absceßbildung, wobei der Pyocyaneus gewonnen werden konnte. Zum Exitus des Tieres kam es nicht.

III. Versuch. Intraperitoneale Injektion von 2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur beim Meerschweinchen führte nach 24 Stunden zum Exitus letalis. Bei der Sektion auffallende Hyperämie der Bauchorgane. In der Milz sowie im Herzblut Pyocyaneus; Herzblutkultur positiv.

Mit geringeren, intraperitoneal injizierten Dosen konnte beim Meerschweinchen der Tod nicht herbeigeführt werden. Ebenso fielen diesbezügliche Versuche beim Kaninchen negativ aus.

IV. Versuch. Einbringen von 24-stündiger Kultur (XIX. Generation) in die Hornhaut des Kaninchens (in eine Hornhauttasche oder durch interlamelläre Einspritzung) führte zur Bildung einer mäßig ausgedehnten Infiltration und Ulzeration bei starker Irisreizung und zur Ausheilung unter Zurücklassung eines Leukoms. Wiederholte Versuche, auch mit alten Kulturen, führten immer wieder zum gleichen Resultat. Recht interessant war bei diesen Versuchen das Auftreten einer sehr starken, sezernierenden Conjunctivitis, die über 8 Tage lang andauerte, und wobei im Sekret reichlich Pyocyaneusbacillen nachweisbar waren.

V. Versuch. Einspritzung von 0,1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur in die Vorderkammer. Am andern Tage schon besteht eine sehr starke gemischte Injektion des Bulbus, Iritis und Exsudatbildung im Pupillargebiet mit nachfolgender teilweiser Verwachsung desselben mit der Linsenkapsel; zu einer Panophthalmie kam es hier auch bei wiederholten Versuchen nicht.

VI. Versuch. Einspritzung von 0,05 ccm einer mit steriler Bouillon aufgeschwemmten, 14 Tage alten Peptonagarkultur in die Vorderkammer. Am folgenden Tage heftige Entzündungserscheinungen, Cornea total getrübt, geschwellte Iris kaum noch sichtbar. Am 3. Tage typisches Bild des Ringabscesses (zentrale gelblichweiße, etwa hirsekorngroße Nekrose, übrige Cornea stark getrübt; 2—3 mm vom Limbus entfernt ein etwa $1^1/_2$ mm breiter gelblich-weißer Infiltrationsring), Hornhaut dabei anscheinend verdünnt und vorgewölbt. Beim Versuch, mit der Pravaz-Spritze aus dem Glaskörper durch die Sklera zu aspirieren, platzt die Cornea an der Stelle der zentralen

1) Nach Kolle-Wassermann, l. c. p. 475 zitiert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nekrotischen Partie, und es springt durch dieselbe die Linse heraus. Mit dem Glaskörperexsudat beschickte Kulturen sowie Ausstrichpräparate ergeben rein Pyocyaneus.

VII. Versuch. Einspritzen von 0,1 ccm einer 24 Stunden alten Bouillonkultur in den Glaskörper des Kaninchens führte innerhalb 2 Tagen zu heftiger Panophthalmie mit Spontanperforation des Bulbus und Ausgang in Phthisis bulbi. Das im akuten Stadium der Entzündung mit der Spritze aspirierte Glaskörperexsudat ergab, auf Nährböden gebracht, Reinkulturen des Pyocyaneus.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß unserem Pyocyaneus-Stamm eine sehr große Virulenz im ganzen nicht zukommt, immerhin war er imstande, in gewissen Dosen intraperitoneal eingebracht, den Exitus weißer Mäuse sowie von Meerschweinchen herbeizuführen. Hochvirulent war er dagegen beim Einbringen in den Glaskörper des Kaninchens, auch hier trat der auch von anderen Untersuchern bei diesem Versuch stets beobachtete Ausgang in Panophthalmie und Phthisis bulbi ein; die Bildung eines Ringabscesses ließ sich dagegen bei diesem Impfmodus nie feststellen. Dagegen gelang es uns, durch Einbringung alter Kultur in die Vorderkammer das klinische Bild des Ringabscesses hervorzurufen.

Weniger virulent erwies sich unser Stamm bei der Hornhautinfektion, indem es hier auch bei wiederholten Versuchen nie zur Zerstörung der Cornea und Perforation derselben kam, wie es von anderen Autoren berichtet wird. Dieses Faktum braucht uns jedoch nicht besonders aufzufallen; denn wir wissen einesteils, daß die Virulenz des Pyocyaneus sich in weiten Grenzen bewegt und außer vom Alter auch noch von anderen Faktoren abhängen kann[1]). Außerdem werden wir aber im folgenden noch sehen, daß die Wirkung des Pyocyaneus selbst auf der menschlichen Hornhaut nicht immer von deletärem Einfluß zu sein braucht und daß dieser Keim zuweilen sogar nur eine gutartige Form der Keratitis auszulösen vermag. Die relativ geringe Virulenz unseres Stammes für die Kaninchenhornhaut ist also nicht besonders auffällig und darf uns an dessen ätiologischer Bedeutung in unserem Fall nicht zweifeln lassen, um so mehr als auch er klinisch verhältnismäßig sehr günstig verlief. Darauf aber werden wir später nochmals zurückkommen.

Seit dessen Feststellung bei einer Dakryocystitis (1885), sowie später auch bei einer Panophthalmie durch Sattler (1897), ist der Bac. pyocyaneus am Auge verschiedentlich beobachtet worden. Während man früher sein Vorkommen am Sehorgan für eine sehr große Seltenheit hielt, scheint dies bei genauer Durchsicht der einschlägigen Literatur nicht mehr in dem Maße zu gelten, und es haben sich die Fälle, in denen er nachgewiesen werden konnte, in der neueren Zeit Dank der sorgfältigeren Berücksichtigung der bakteriologischen Untersuchung in der Augenheilkunde nicht wenig vermehrt. Auf diese Weise ist es gelungen, seine Gegenwart bei verschiedenen Augenaffektionen festzustellen.

Sattler (31) führt an, den Bac. pyocyaneus auch im Eiter einer Dakryocystitis gefunden zu haben; einen ähnlichen Befund haben Terson und Cuénod (41) in zwei Fällen erhoben (Pyocyaneus neben Streptokokken und Staphylokokken).

Etwas häufiger begegnet man dem Bac. pyocyaneus als Conjunctivitiserreger.

1) Axenfeld, Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. Jena (G. Fischer) 1907. p. 281.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

v. Herff (15) fand ihn zweimal bei Blenorrhoea neonatorum, ebenso Derby (7) in einem weiteren Fall, neben dem Staphylococcus aureus. Weitere derartige Beobachtungen liegen vor von Stephenson (38), von Elschnig (8) (hier neben Streptokokken), sowie neuerdings von Hanke und Tertsch (12).

Während alle diese Fälle Neugeborene betreffen, beobachtete Pusey (29) eine mit leichter Follikelschwellung einhergehende Conjunctivitis bei einem Erwachsenen, die durch den Pyocyaneus verursacht war. Bouillonkultur bei einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert, verursachte dessen Tod innerhalb 24 Stunden; Einbringung in den Conjunctivalsack eines anderen Tieres rief keine Entzündung hervor.

Derselbe Autor beschreibt sodann einen weiteren Fall, bei welchem er aus dem linken Conjunctivalsack eines 25-jährigen Mannes den Pyocyaneus züchten konnte; die Bindehaut erwies sich dabei vollständig normal. Dieser Fall ist insofern von Interesse, als er dartut, wie variabel die Virulenz dieses Keimes sein kann.

Hier sind auch die Versuche Herberts (14) zu erwähnen, der durch Impfung eines von einer Keratitis gezüchteten Pyocyaneus-Stammes auf die menschliche Bindehaut kleine Abszesse erzeugen konnte.

Am häufigsten trifft man den Pyocyaneus als Erreger von Hornhautinfektionen, wobei im allgemeinen die schwersten Hornhautdestruktionen bis zum totalen Verlust des Auges beobachtet werden; nur ausnahmsweise sind benigner verlaufende Fälle beschrieben worden.

Die erste bakteriologisch sichergestellte Beobachtung von Infektion der Cornea durch den Pyocyaneus stammt von Sattler (32).

Es handelte sich um einen 40-jährigen Kohlenbergwerkarbeiter, dem ein kindsfaustgroßer Stein gegen das rechte Auge geflogen war. Am zweiten Tage nach der Verletzung traten äußerst heftige Schmerzen im Auge und in der betreffenden Kopfhälfte auf, die dem Patienten den Schlaf raubten. Acht Tage nach der Verletzung ergab die Untersuchung Wahrnehmung von Handbewegungen in $^1/_2$ m und unsichere Lichtprojektion. Es bestand starke Lidschwellung, Chemosis und eitrige Sekretion. Die Hornhaut erschien fast in ihrer Totalität in den oberflächlichen Schichten vereitert, verdünnt, von in Abstoßung begriffenen nekrotischen Massen bedeckt. In der vorderen Kammer fand sich ein ziemlich hohes Hypopyon. In den nächsten Tagen nahmen die entzündlichen Erscheinungen zu, es stellte sich Protrusion des Bulbus ein, so daß am 14. Tag nach der Verletzung die Exenteratio bulbi vorgenommen wurde. Es fand sich hierbei ein Glaskörperabszeß im vorderen Bulbusabschnitt, aus welchem sich hochvirulente Pyocyaneus-Bacillen züchten ließen.

Einen weiteren Fall konnte Sattler (33) schon im folgenden Jahre mitteilen. Einer 61-jährigen Frau war beim Holzspalten ein größerer Splitter an das rechte Auge geflogen, der sofort konsultierte Arzt konnte jedoch keine Verletzung konstatieren; bald darauf Einsetzen sehr heftiger Schmerzen. Am dritten Tag fand sich Schwellung der Lider und Chemosis conj. bulbi vor, untere Hälfte der Cornea von einem, mit nekrotischen Fetzen bedeckten Substanzverlust eingenommen. Der obere Rand des Geschwürs war etwas aufgeworfen und gelblichweiß infiltriert, die übrige Cornea matt und diffus getrübt. Ein Hypopyon nahm fast die Hälfte der Vorderkammer ein. Der Visus beschränkte sich auf Wahrnehmung von Lichtschein in einigen Metern, die Projektion war unsicher. Am folgenden Tage schon wurde wegen Zunahme der Entzündung zur Exenteratio bulbi geschritten. Von Interesse ist, daß man nur im medialen vorderen Abschnitt des Glaskörpers eine umschriebene Eiteransammlung vorfand, während die Linse sowie der übrige Glaskörper vollkommen durchsichtig waren.

Es hat sich in diesen beiden Fällen offenbar um eine atypische Hypopyonkeratitis mit Ausgang in Panophthalmie gehandelt. Sattler nimmt an, daß in beiden Fällen von dem zirkumskripten die Bacillen enthaltenden Abszeß sehr intensive, weit in die Umgebung sich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verbreitende Toxine ausgingen, welche zu einem entzündlichen Oedem der Tenonschen Kapsel und erheblicher Protrusion des Bulbus führten.

Ebenso ungünstig verlief der von Bietti (3) veröffentlichte Fall. Bei einem 53-jährigen Mann, der durch einen Stein am linken Auge getroffen worden war, bildete sich am zweiten Tage nach der Verletzung im Hornhautzentrum ein Ulcus mit Infiltrationszone sowie Hypopyon in der Vorderkammer aus. Trotz Ausführung des Saemischschen Schnittes breitete sich das Ulcus weiter aus und es kam am 8. Tage, ohne daß eine ausgedehnte Hornhautzerstörung eingetreten wäre, zum Ausbruch einer Panophthalmie mit Ausgang in Phthisis bulbi.

In auffallendem Gegensatz zu den eben beschriebenen Fällen steht die Beobachtung von Herbert (14), welcher den Pyocyaneus bei einer ganz harmlosen Keratitis vorfand. Die Uebertragung von Reinkultur auf die gesunde Conjunctiva erzeugte kleine Abszesse in den Lidern, sowie eine leichte oberflächliche Keratitis; zu einer tieferen Zerstörung kam es nicht. Weitere Virulenzprüfungen fehlen.

Verhältnismäßig günstig war der Ausgang auch im Falle von Schmidt (35). Einem 32-jährigen Arbeiter war beim Schleifen ein Spahn von der Schmirgelscheibe an die rechte Hornhaut geflogen; am folgenden Tag hatte sich schon eine Hypopyonkeratitis entwickelt, die in der Folge weiter fortschritt und mit Heilung in Leucoma adhaerens ausging. Durch eine später vorgenommene optische Iridektomie erreichte man einen Visus von $^4/_{50}$. Aus dem Geschwürsgrund konnte Stoewer den Pyocyaneus züchten. Hornhautimpfungen beim Kaninchen riefen eine mildere Form der Ulzeration mit Neigung zu flächenhafter Ausbreitung hervor.

Bei der von De Berardinis (6) gemachten Beobachtung dahingegen kam es nach Verletzung durch einen Strauch zur Ausbildung einer Hypopyonkeratitis mit Ausgang in Panophthalmie schon am 3. Tag nach dem Trauma. Die Tierversuche ergaben eine hochgradige Virulenz des isolierten Pyocyaneus-Stammes.

In beiden Fällen also verbreitete sich im Anschluß an eine Trauma eine Nekrose der Hornhautschichten rasch über die ganze Oberfläche, woran sich dann bald panophthalmitische Erscheinungen anschlossen.

Weitere kurze Mitteilungen liegen vor von Paterson und Ritchie (zwei Fälle) (25), sowie von Angus (1); die Ersteren konnten außerdem in einem Fall den Pyocyaneus aus der Conjunctiva züchten.

Von Interesse war an dem von Mac Nab (19) publizierten Fall die Tatsache, daß sich hier ohne irgendwelche nachweisbare Verletzung eine Hypopyonkeratitis entwickelte, die am 7. Tage nach Einsetzen der entzündlichen Erscheinungen den Saemischschen Schnitt notwendig machte. Eine spätere Drucksteigerung wurde durch eine Iridektomie beseitigt. Dieser Fall, sowie derjenige Herberts, sprechen dafür, daß unter Umständen der Pyocyaneus auch auf der gesunden Bindehaut pathogen wirken und von hier aus die Cornea beteiligen kann.

Einen Fall von Hypopyonkeratitis durch Pyocyaneus nach Eindringen von Staub ins Auge beobachtete Szczybalski (40). Hier jedoch führte die Kauterisation zu rascher Besserung und Ausheilung unter Zurückbleiben einer ausgedehnten Hornhauttrübung. Im Gegensatz zu diesem relativ guten Ausgang zeigte der isolierte Stamm eine starke Pathogenität für Tiere.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Paul (26) erwähnt kurz, daß er gelegentlich bei Hornhautgeschwüren unter anderem auch den Pyocyaneus beobachtet habe.

Zu Perforation der Hornhaut, sowie zu Heilung mit Leucoma adhaerens kamen die Fälle von Ewing (9), Callan (5), sowie ein weiterer von Bietti (4). In zwei anderen Fällen, die von Meyer (21) publiziert worden sind, konnte der eitrige Hornhautprozeß weder durch wiederholte Kaustik, noch durch Spaltung nach Saemisch zum Stillstand gebracht werden, so daß man zur Exenteratio bulbi schreiten mußte; hierbei erwies sich, ähnlich wie in den schon erwähnten Fällen von Sattler, der vorderste Teil des Glaskörpers bereits infiziert. Ebenso mußte in den Fällen von Fridenberg (10) und von Morax (23) wegen Uebergreifen der Infektion von der Hornhaut aus auf die tiefen Bulbusgewebe zur Enukleation geschritten werden; im letzteren Fall konnten auch Einträufelungen von Kaninchengalle den destruierenden Prozeß nicht aufhalten.

Smith (37) will in einem Fall von Hornhautinfektion den Pyocyaneus nachgewiesen haben; Näheres hierüber konnte ich leider nicht finden.

Auch in der neuesten Literatur fehlt es nicht an Beobachtungen über Infektion der Hornhaut durch den Pyocyaneus. Leber (17) bekam einen solchen Fall nach einer nicht perforierenden Eisensplitterverletzung der Hornhaut zu sehen, auch hier war der Endausgang ein totales Leukom. In dem von Löwenstein (18) mitgeteilten Fall dagegen führte die 3 Tage nach dem Auftreten der Hypopyonkeratitis vorgenommene gründliche Verschorfung zur baldigen Reinigung des Geschwüres und zum Verschwinden des Hypopyon; die mit dem gezüchteten Pyocyaneus vorgenommene Hornhautimpfung bei Kaninchen nahm ebenfalls einen benignen Verlauf.

Bei der von Salani (30) publizierten Beobachtung von Hypopyonkeratitis endlich, die sich im Anschluß an eine Kuhhornstoßverletzung der rechten Gesichtshälfte entwickelte, gestaltete sich der Heilprozeß ungünstig; trotz Einträufelungen von 1-proz. Pikrinsäure, die sonst bei ähnlichen Prozessen in der Klinik von Guaita mit günstigem Erfolg angewandt worden sind, kam es zu Perforation der Hornhaut und Leucoma adhaerens. Bemerkenswert war in diesem Falle außer der heftigen Bindehautentzündung und des Lidödems die profuse eitrige Sekretion, so daß dadurch ein der Conj. purulenta ähnliches Bild hervorgerufen wurde.

Neben dieser Form der Infektion der Cornea, die also nach dem vorliegenden Material in den meisten Fällen unter dem Bild einer atypischen Hypopyonkeratitis verläuft, kommt es gelegentlich durch den Bac. pyocyaneus noch zu einer anderen, vielleicht noch schwereren Hornhautaffektion, die von Fuchs[1]) als Ringabszeß der Cornea bezeichnet wird. Bei dieser Erkrankungsform, die wohl fast ausnahmslos zum Untergang des Auges führt, handelt es sich um eine primäre Nekrose der hintersten Hornhautlamellen mit sekundärem Einwanderungsring und Ausgang in Panophthalmie, und zwar kann dieselbe entweder ektogen oder endogen (metastatisch) entstehen. Was den Entstehungsmodus selbst betrifft, so nimmt man an, daß es sich dabei um eine Toxinwirkung handelt, die von der Vorderkammer ausgeht. Demzufolge ist

1) Fuchs, Ueber Ringabszeß der Hornhaut. (Arch. f. Ophth. Bd. 51. 1903. p. 1.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Aetiologie des Ringabszesses der Cornea keine einheitliche und kann derselbe durch verschiedene Mikroorganismen[1]), ja sogar, wie die Fälle von Fuchs (l. c.), sowie von Tertsch (42) dartun, durch Toxine stark nekrotischer intraokularer Tumoren hervorgerufen werden.

Entsprechend seiner Eigenschaft, Toxine zu bilden, kommt also auch dem Pyocyaneus das Vermögen zu, einen Ringabszeß der Hornhaut hervorzurufen.

Der erste derartige, in der Literatur beschriebene Fall stammt von Hanke (11). Ein 44-jähriger Spinner war durch heißes Maschinenöl am rechten Auge verletzt worden, aber erst 10 Tage später trat an demselben eine Entzündung auf. Nach 4 Tagen Schwellung und Rötung der Lider, Cornea in toto matt, getrübt; 3 mm vom Limbus verläuft in ihr ein saturierter gelbgrauer Ring von ungefähr 2—3 mm Breite. Es besteht außerdem auf der Cornea eine zentrale graue Trübung und zwei infiltrierte Geschwüre, in der Vorderkammer ein 4 mm hohes Hypopyon. Der Visus war auf Lichtperzeption reduziert, die Projektion war jedoch gut. Der Prozeß tendierte im weiteren zum Rückgang, da aber der Patient sich der weiteren Beobachtung entzog, fehlt ein Schlußresultat.

Hanke konnte sowohl aus dem Geschwür als auch aus dem Hypopyon einen Mikroorganismus reinzüchten, dem die Fähigkeit innewohnte, mit dem Tierauge in Kontakt gebracht, in allen Fällen eine mit einem typischen Ringabszeß einsetzende Panophthalmie hervorzurufen. Während aber Hanke diesen Mikroorganismus mit dem Bac. proteus fluorescens (von H. Jäger) identifizierte, hat Mac Nab (20), der die Gelegenheit hatte, denselben Stamm im Laboratorium der Freiburger Klinik nachzuprüfen, festgestellt, daß der von Hanke isolierte Bacillus zur Familie des Pyocyaneus gehörte, und daß man aus dessen Kulturen das typische Pyocyanin ausziehen konnte. Daran ändert auch der Einwand Hankes nichts, der wegen des Umstandes, daß er einen Ringabszeß experimentell nur mit alten Kulturen, dagegen nicht mit frischen erzeugen konnte, an der Sonderstellung seines Bacillus festhalten möchte; denn, wie Axenfeld (2, p. 281) mit Recht betont und wie auch aus der vorliegenden Darlegung hervorgeht, kann die Toxizität des Pyocyaneus ungemein variieren und von verschiedenen Faktoren abhängen.

1) Axenfeld, Ueber die eitrige metastatische Ophthalmie, bes. ihre Aetiologie und prognostische Bedeutung. (v. Graefes Arch. f. Ophth. Bd. 40. 1894. H. 3. p. 1.)
Fuchs, l. c.
Morax, L'abcès annulaire de la cornée et sa signification. (Ann. d'Oculist. T. 132. 1904. p. 409.).
Happe, Ueber den Ringabszeß der Cornea. (Ber. über die 34. Vers. der Ophth. Ges. Heidelberg. 1907. p. 343.)
Stoewer, Ein Fall von Ringabszeß der Hornhaut. (Klin. Mon. f. Augenh. XLV. 1907. Bd. 1. p. 372.)
Cramer, Beitrag zu den Erfahrungen über den Ringabszeß der Hornhaut. (Klin. Mon. f. Augenh. XLVIII. 1910. Bd. 1. p. 620.)
Tertsch, Ueber den Ringabszeß der Cornea. (v. Graefes Arch. f. Ophth. Bd. 77. 1910. H. 2. p. 314.)
Kuffler, Zur Frage der Glaskörperinfektion und des Ringabscesses. Experimentelle und kritische Untersuchungen. (v. Graefes Arch. f. Ophth. Bd. 78. 1911. H. 2. p. 227.)
Czermak, Vortrag im Ver. deutscher Aerzte in Prag. (Prag. med. Wochenschr. XXX. No. 8.)
Kodama, Bac. subtilis bei Panophthalmie mit Ringabsceß, zit. nach Kuffler.
Mizuo, Ueber die Augenveränderungen bei Pest. (Arch. f. Augenh. LXV. 1910. p. 1.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Einen Ringabszeß der Cornea durch Pyocyaneus sah ferner Happe (13) nach Eindringen eines kleinen Eisensplitters in die Hornhaut entstehen. Auch hier kam der geschwürige Prozeß zur Heilung, so daß der Patient 3 Wochen nach der Verletzung mit Lichtempfindung und guter Projektion am betreffenden Auge entlassen werden konnte.

Eine derartige Beobachtung endlich stammt von Tertsch (42). 8 Tage nach einer Steinsplitterverletzung konstatierte man das Bestehen von Lidschwellung und Chemosis, sowie eines Ringabszesses nebst Hypopyon in der Vorderkammer. Die Projektion war mangelhaft. Auffallend ist die Angabe von Tertsch, wonach er bei dem in diesem Fall gezüchteten Pyocyaneus-Stamm Sporenbildung beobachtet habe, eine Eigenschaft, die sonst bei diesem Keim nicht bekannt ist.

Wie ich bereits an anderer Stelle beschrieben habe, war es mir durch Einspritzung alter Pyocyaneus-Kultur in die Vorderkammer des Kaninchens möglich, das klinische Bild des Ringabszesses hervorzurufen, während diesbezügliche Experimente durch Cornealimpfung auch mit alter Kultur negativ ausfielen.

Hanke sowie Happe haben dagegen sowohl bei Impfung ihres Stammes in das Augeninnere von Tieren als auch bei Cornealimpfung das klinische Bild des Ringabszesses hervorrufen können, Tertsch gelang dies nie (l. c. p. 324). Im Hinblick auf die letztere Tatsache unterzieht dieser Autor diese Fälle einer Kritik und kommt auf Grund seiner Untersuchungen zum Resultat, daß durch eine oberflächliche Verletzung der Hornhaut nicht ein echter Ringabszeß, wohl aber unter Umständen beim Menschen und vor allem im Tierauge das Bild eines Ringinfiltrates entstehen kann, das klinisch dem Ringabszeß ähnlich, doch nicht mit dem von Fuchs aufgestellten histologischen Bild identisch ist.

Ohne mich näher auf diese Frage, die noch der Aufklärung bedarf, einlassen zu wollen, möchte ich darauf hinweisen, daß Cramer (l. c.) kürzlich einen Fall mitgeteilt hat, der mit einem stecknadelkopfgroßen Epitheldefekt der Cornea begann und unter dem Bilde des Ringabszesses innerhalb von 24 Stunden zur Perforation des Bulbus führte. In diesem Fall, für den Pneumokokkentoxine verantwortlich gemacht werden, zeigte die Cornea histologisch eine eitrige Infiltration, beginnende zentrale Nekrose und Kapillareneinwanderung; Mikroorganismen fehlten. Hieraus geht hervor, daß die Möglichkeit der Entstehung des Ringabszesses durch eine oberflächliche Infektion der Hornhaut, wenn nicht bewiesen, doch auch, wenigstens nach dem vorliegenden Material, nicht gänzlich ausgeschlossen ist.

Eine letzte Gruppe von ektogener Infektion des Auges wird durch die Verletzungspanophthalmien dargestellt. Sieht man von den zwei bereits zitierten Sattlerschen Fällen ab, die mit einer Hornhauteiterung begannen und nach Perforierung zu Panophthalmie führten, so gehören hierher der von Poplawska (28) aus der Haabschen Klinik mitgeteilte, aber kulturell nicht sichergestellte Fall, sowie derjenige von Schanz (34).

Während aus dem vorliegenden Material hervorgeht, daß die ektogene Infektion des Auges durch den Bac. pyocyaneus gar nicht so selten vorkommt, habe ich die endogene Infektion beim Menschen in einem einzigen Fall beschrieben gefunden. Pergens (27) teilt uns mit, in einem Fall von metastatischer Orbitaleiterung den Bac. pyo-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

cyaneus neben dem Staphylococcus aureus vorgefunden zu haben.

Aus zahlreichen experimentellen Untersuchungen dagegen wissen wir, daß der in die Blutbahn eingebrachte Pyocyaneus sich sehr häufig im Auge ansiedelt [Panas (24), Moll (22)]. Auch bei diesen Experimenten, die ich hier nicht alle anführen will, tritt die sehr variable Virulenz dieses Keimes, auf die wir schon verschiedentlich hingewiesen haben, deutlich zutage. Während z. B. Moll (22) durch intravenöse Injektion von Pyocyaneus metastatische Uvealentzündungen hervorrufen konnte und bald darauf den Tod der betreffenden Tiere eintreten sah, konnte Stock (39) mit hochvirulenten Stämmen embolische Prozesse in der Uvea erzeugen, die in Heilung übergingen, ohne weitere Folgen nach sich zu ziehen. Ebenso konnten Woyzechowsky (43) und Selenkowsky (36) durch intravenöse Injektion von verschieden virulenten Pyocyaneus-Stämmen neben schwereren auch leichtere metastatische Entzündungen des Auges hervorrufen.

Aus diesen Experimenten, sowie aber besonders aus dem vorliegenden klinischen Material geht jedenfalls hervor, daß die Schwere der Pyocyaneus-Infektion am Auge, außer von anderen Faktoren, nicht nur von der Lokalisation der Infektion, sondern auch in hohem Grade von der Virulenz des betreffenden Stammes abhängig ist. So haben wir gesehen, daß der Pyocyaneus von der Conjunctiva ganz reizlos vertragen werden kann (Pusey, l. c.), daß er aber andererseits auch eine Conjunctivitis hervorzurufen imstande ist, die sogar den blenorrhoischen Charakter aufweisen kann (Salani, l. c.). Auf der Cornea ferner ist die Pyocyaneus-Infektion im allgemeinen als eine ernste aufzufassen, dahingegen fehlt es auch hier nicht an Fällen, die einen verhältnismäßig günstigen Ausgang nehmen, ja sogar auch nicht an solchen (Herbert, l. c.), in denen nur eine leichte Keratitisform zustande kommt. Gelangt der Pyocyaneus in das Innere des Auges, so ist eine Rettung desselben im allgemeinen kaum möglich (so z. B. in den Fällen von Sattler); ausgeschlossen ist sie aber auch dann nicht. Denn außer des Falles von Schmidt-Stoewer (l. c.), der trotz Perforation des Ulcus corneae zur Ausheilung kam und als Schlußresultat einen Visus von $^{4}/_{50}$ aufwies, sowie von anderen Fällen, die trotz Perforation noch eine leidliche Lichtprojektion behielten, deuten doch auch die vorhin erwähnten Versuche darauf hin, daß auch das Eindringen des Pyocyaneus ins Auge nicht unbedingt von deletärer Bedeutung zu sein braucht. Wenn daher Herrenheiser (16) den Pyocyaneus unter den Eitererregern für das Auge obenan stellt, so gilt dies, wie Axenfeld (l. c., p. 280) hervorhebt, natürlich nicht für alle Stämme in gleichem Maße.

In dieser Beziehung war auch unsere Beobachtung, auf die wir nun näher zu sprechen kommen, interessant. Auch bei ihr kam es, trotz der ausgedehnten Zerstörung der Hornhaut, nicht zu einer Perforation derselben, sondern nur zur Bildung eines dichten Leukoms, sowie von organisierten Exsudatmassen in der Vorderkammer. Recht günstig ist das Erhaltensein einer guten Lichtprojektion zu nennen, wodurch die Möglichkeit gegeben ist, durch eine spätere optische Iridektomie ein brauchbares Sehvermögen zu erzielen.

Dem klinisch günstigen Verlauf unseres Falles entspricht im ganzen auch das Resultat der Tierversuche. Bei subkutaner, sowie intraperitonealer Einverleibung von geringeren Dosen des von uns gezüchteten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Pyocyaneus, konnte der Exitus der Tiere (weiße Maus, Meerschweinchen, Kaninchen) nicht herbeigeführt werden; dies gelang z. B. bei den für den Pyocyaneus sonst sehr empfindlichen Meerschweinchen erst bei intraperitonealer Einbringung von 2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur. Bei der Impfung der Hornhaut des Kaninchens kam es, auch bei Wiederholung der Versuche, immer wieder nur zur Ausbildung einer verschieden ausgedehnten Infiltration und Ulzerierung, die jedoch nie zur Perforation führten und mit Hinterlassung eines Leucoma corneae ausheilten. Aber selbst die Einspritzung von etwa 0,1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur in die Vorderkammer führte nicht zum direkten Untergang des Auges, sondern nur zu schwerer Iritis und Schwartenbildung im Pupillargebiet und Verwachsung der Iris mit der Linse. Ein anderes war das Resultat beim Einbringen von 14 Tag alter fester Pyocyaneus-Kultur, die mit steriler Bouillon aufgeschwemmt wurde, in die Vorderkammer. Hier kam es am 3. Tage unter dem typischen klinischen Bild des Ringabszesses zu einer Panophthalmie. Es bildet auch dieser Versuch einen Beleg für die äußerst schwankende Toxizität des Pyocyaneus. Das Einbringen der Kultur in den Glaskörper dagegen führte stets zu intensiver Entzündnng des Bulbus, Panophthalmie und spontaner Perforation mit Ausgang in Phthisis bulbi.

Es geht aus allen diesen Daten zur Evidenz hervor, daß es sich bei unserem Pyocyaneus wohl um einen verhältnismäßig wenig virulenten Stamm gehandelt hat und daß daraus der verhältnismäßig günstige Ausgang der von ihm gesetzten Hornhautinfektion erklärlich ist.

Was die letztere selbst anbetrifft, so müssen wir sie unter die Fälle von sog. atypischer Hypopyonkeratitis einreihen, wie sie eben, außer wie durch andere Keime, auch durch den Pyocyaneus hervorgerufen werden kann. Es kommt hier zu einer schnell um sich greifenden, zunächst oberflächlichen, später aber auch in die Tiefe reichenden Infiltration und Ulzeration der Hornhaut, ohne einen bestimmten, nach einer einzigen Richtung fortschreitenden unterminierten Infiltrationsrand, wie er eben für die typische Hypopyonkeratitis charakteristisch ist. In der Folge kommt es dann zu ausgedehnter Sphacelierung und Nekrose der Corneallamellen und in der Mehrzahl der Fälle zu Perforation der Hornhaut mit ihren Folgen; nur selten tritt eine Reinigung und Ausheilung des Hornhautgeschwürs ein, wie z. B. in unserem Falle und in demjenigen Szczybalskis.

An Begleiterscheinungen findet man die Bildung eines ausgedehnten, dichten und fibrinösen Hypopyons, das zur Resorption wenig neigt und später, wie z. B. in unserer Beobachtung, starke Tendenz zur Organisierung zeigt. Außerdem kommt es von seiten der stark beteiligten Uvea zur Exsudation im Pupillargebiet, sowie in den Glaskörper, Erscheinungen, die wohl zum Hauptteil durch die starke Toxinausscheidung durch den Pyocyaneus bedingt sind.

Auf diese Toxinwirkung ist ferner, außer den in einzelnen Fällen, z. B. von Mac Nab (19) beobachteten Allgemeinerscheinungen (Fieber, Uebelsein, Erbrechen), die Lidschwellung sowie die auffallende Chemose der Conjunctiva bulbi zurückzuführen. Die letztere kann in einzelnen Fällen so hohe Grade erreichen, daß, wie z. B. in dem eben erwähnten Fall Mac Nabs, ein der Panophthalmie ähnliches Bild entstehen kann, noch bevor die tieferen Teile des Bulbus stärker affiziert

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sind. Aehnlich verhielt es sich auch in den beiden Beobachtungen Sattlers (l. c.), wo von einem zirkumskripten Abszeß des Glaskörpers aus sich so virulente Toxine ausbreiteten, daß dadurch ein Oedem der Tenonschen Kapsel und eine Protrusion des Bulbus verursacht wurden.

Auch bei unserem Patienten war die Chemosis der Conjunctiva so hochgradig, daß bei der Besichtigung zunächst nur ein ganz kleiner, zentraler Hornhautbezirk vorlag und erst die Abhebung der wallartig darüber gelagerten Bindehaut einen genauen Einblick in die ausgedehnte Mitbeteiligung der übrigen Hornhautpartien zuließ. Dieser Zustand der Conj. bulbi erhielt sich etwa zwei Monate lang fast unverändert und führte schließlich, nach Abschwellung der Bindehaut, zur Bildung eines Pseudopterygiums im unteren Hornhautquadranten.

Dieses letztere Ereignis scheint mir für den Ausgang unseres Falles nicht ganz ohne Bedeutung gewesen zu sein. Wie aus der Krankengeschichte hervorgeht, war die Hornhaut am stärksten im unteren Quadranten infiltriert und zerstört. Dadurch nun, daß der chemotische Bindehautwulst dieser Partie längere Zeit anlagerte und daß es dadurch zur Verwachsung mit derselben kam, dürfte wohl dieser Vorgang mit einer natürlichen Bindehautplastik verglichen werden, die einer Spontanperforation der Hornhaut entgegengearbeitet hat. Es dürfte daher die Annahme berechtigt sein, daß an dem günstigen Ausgang unseres Falles, neben der relativ geringeren Virulenz unseres Pyocyaneus-Stammes, auch die starke Bindehautchemose mitgewirkt hat.

Ganz besonderes Interesse beansprucht bei unserer Beobachtung die besondere Art der Beteiligung der Lidbindehaut an dem infektiösen Prozeß.

Aus der einschlägigen Literatur geht, wie ich bereits ausgeführt habe, hervor, daß die Ansiedelung des Pyocyaneus auf der Conjunctiva des Erwachsenen reizlos vertragen werden (Pusey, l. c.) oder zu einer leichten Form von Conjunctivitis führen kann (Pusey); nur im Falle Salanis wird von einer profusen eitrigen Sekretion berichtet. Bei Neugeborenen dagegen scheint die Wirkung eine intensivere zu sein und kommt es hier meist zu einer Bindehautentzündung blenorrhoischen Charakters.

Ganz einzigstehend ist in dieser Beziehung unser Fall, wo die Bindehauterkrankung das Bild einer pseudomembranösen Conjunctivitis darbot: Lidschwellung, serös-sanguinolente, später serös-eitrige Sekretion und Auflagerung von graugelben Membranen auf der Lidbindehaut, die nach deren Entfernung etwas blutet. Da in dem Conjunctivalsekret, sowohl im Ausstrichpräparat als auch kulturell der Pyocyaneus rein vorgefunden wurde, ist die Annahme berechtigt, diesen Keim für die Bindehautentzündung verantwortlich zu machen, so daß wir die interessante Tatsache festgestellt hätten, daß der Pyocyaneus unter anderem auch eine Conj. pseudomembranosa hervorzurufen imstande ist. Eine gewisse Bestätigung dafür sehen wir in dem Umstande, daß in unseren Versuchen, sowohl bei der Impfung von Pyocyaneus-Kultur in die Cornea als auch in die Vorderkammer Impfmaterial in den Conjunctivalsack zurückfloß und daß sich hernach eine sehr stark sezernierende, heftige Conjunctivitis einstellte, die über eine Woche lang andauerte und im Sekret Pyocyaneus-Stäbchen enthielt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die bei unserem Patienten festgestellte Conjunctivalerkrankung ist noch in einer anderen Hinsicht recht bemerkenswert. Soweit aus der Literatur ersichtlich ist, nimmt der Hornhautprozeß fast stets seinen Ausgang von einer Verletzung. Nur in den Beobachtungen von Mac Nab (19) und von Morax (23) fehlt anamnestisch jede traumatische Veranlassung und findet sich bei der ersteren das Bestehen einer auffällig stark sezernierenden Conjunctivitis erwähnt. Mit Recht nimmt der erstere Autor an, daß in seinem Falle die Conjunctivitis wohl primär bestanden und daß sich die Hornhauterkrankung sekundär daran angeschlossen habe. Sicher bewiesen ist aber diese Annahme durch diese Fälle nach meiner Ansicht nicht, weil dieselben erst 6, bezw. 3 Tage nach dem Beginn der Krankheit zur Beobachtung kamen, und zwar zu einer Zeit, wo die Cornea bereits mehr oder weniger an dem infektiösen Prozeß mitbeteiligt war.

Unser Fall ist nun deswegen besonders interessant, als die erste, 3 Tage nach dem spontanen Auftreten des Augenleidens vorgenommene Untersuchung von seiten des Augenarztes das Bestehen einer Conjunctivitis pseudomembranosa ergab, an der Hornhaut dagegen nicht die geringste Veränderung nachweisbar war. Erst am fünften Tag nach Beginn des Augenleidens konnte der Arzt am oberen Hornhautrand zwei kleinste Hornhautinfiltrate konstatieren, von denen dann der weitere Cornealprozeß seinen Fortgang nahm.

Durch diesen Fall, sowie durch die von Herbert (l. c.) vorgenommenen und an anderer Stelle bereits erwähnten Versuche scheint mir die interessante Tatsache erhärtet zu sein, wonach in gewissen Fällen der Pyocyaneus auch auf der unverletzten Bindehaut pathogen wirken und von da aus die Cornea mitbeteiligen kann.

Natürlich braucht eine Beteiligung der Cornea an dem infektiösen Bindehautprozeß nicht immer stattzufinden, und daß dies sich auch so verhält, wird durch die verschiedenen angeführten Fälle von Conjunctivitis beim Neugeborenen und auch beim Erwachsenen dargetan, die durch den Pyocyaneus verursacht waren und in deren Verlauf es nicht zu einer Erkrankung der Cornea kam. Immerhin ist es doch vom praktischen Standpunkt aus von Bedeutung, darauf hinzuweisen, daß eine Hornhautkomplikation doch eintreten kann und daß daher in Anbetracht der Schwere derselben und der sehr geringen Beeinflußbarkeit durch die Therapie das durch den Pyocyaneus verursachte Conjunctivalleiden möglichst vorsichtig und rasch zur Heilung gebracht werden soll, um dadurch die Gefahr des Eintretens schwerster Komplikationen von seiten der übrigen Bulbusgewebe zu beseitigen oder wenigstens zu verringern.

An dieser Stelle sei mir gestattet, Herrn Geheimrat Prof. Axenfeld für die Ueberlassung der Arbeit, sowie für seine liebenswürdige Unterstützung bei derselben meinen herzlichsten Dank abzustatten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literatur.

1) Angus, Ulceration of the cornea due to infection with bacillus pyocyaneus. (The Ophthalm. Review. 1904.)
2) Axenfeld, Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. Jena. (G. Fischer) 1907.
3) Bietti, Il bacillo piocianico nel cheratoipopio. (Ref. durch Gallenga b. XV. Congr. dell'Assoc. Oftalm. Ital. Torino 2—6 Ott. 1898; Annal. die Ottalm. Vol. 28. 1899. p. 508.)
4) — Ricerche batteriologiche nel cheratoipopio. (Annal. di Ottalm. Vol. 35. 1906. p. 368.)
5) Callan, Ulceration and destruction of cornea caused by the bac. pyocyaneus. (Transact. of the Americ. Ophth. Soc. 1906. p. 201.)
6) De Berardinis, Ulcera corneale con ipopion da bacillus pyocyaneus. (Annal. di Ottalm. Vol. 32. 1903. p. 789.)
7) Derby, The bacillus pyocyaneus found in a case of conjunctivitis. (The Americ. Journ. of Ophth. Vol. 22. 1905. p. 1.)
8) Elschnig, Neugeborenenblenorrhöe. (Wien. med. Wochenschr. 1908. p. 210.)
9) Ewing, Bac. pyocyaneus — its virulence in the eye, its longevity and immunity from it. (Transact. of the Americ. Ophth. Soc. 1906. p. 204.)
10) Fridenberg, Pyocyaneus-ulcer of the cornea. (New York Med. Journ. June 1. 1907.)
11) Hanke, Ein bisher unbekannter Bacillus, der Erreger des typischen Ringabszesses der Cornea. (Zeitschr. f. Augenh. Bd. 10. 1903. p. 373.)
12) — u. Tertsch, Einige seltene Infektionen des Auges. (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. XLV. 1907. Bd. 2. p. 545.)
13) Happe, Ueber den Ringabszeß der Cornea. (Ber. über die 34. Vers. der Ophth. Ges. Heidelberg 1907. p. 343.)
14) Herbert, Superficial punctate keratitis associated with an encapsuled bacillus. (The Ophth. Review. Vol. 20. 1901. p. 339.)
15) v. Herff, Ophthalmoblenorrhoea gonorrhoica. (Jahresber. d. Frauenklinik in Basel. 1904.)
16) Herrnheiser, Ueber metastatische Entzündungen im Auge und die Retinitis septica. (Prager Zeitschr. f. Heilk. Bd. 14. 1893.)
17) Leber, A., Hypopyonkeratitis durch Bac. pyocyaneus. (Berlin. Ophth. Ges. Sitzung v. 15. Juli 1909; Centralbl. f. prakt. Augenh. Bd. 34. 1910. p. 23.)
18) Löwenstein, Zur Bakteriologie des Hornhautgeschwüres. (Klin. Monatsbl. f. Augenh. XLVIII. 1910. Bd. 2. p. 203.)
19) Mac Nab, Ueber Infektion der Cornea durch den Bac. pyocyaneus. (Klin. Monatsbl. f. Augenh. XLII. 1904. Bd. 1. p. 65.)
20) — Bemerkungen zum Vorkommen des Bac. pyocyaneus am Auge. (Klin. Monatsbl. f. Augenh. XLIII. 1905. Bd. 2. 542.)
21) Meyer, Ueber eitrige Keratitis. (Verhandl. der Ges. Deutsch. Naturf. u. Aerzte. Dresden 15.—21. Sept. 1907. 2. Teil. 2. Hälfte. Med. Abt. p. 315.)
22) Moll, Zur Lehre der sympathischen Ophthalmie. (Centralbl. f. Augenh. 1898. p. 245.)
23) Morax, Ulceration de la cornée avec hypopyon produite par le bacille pyocyanique. (Annal. d'Ocul. T. 138. 1907. p. 366.)
24) Panas, Le rôle de l'autoinfection dans les maladies oculaires. (Arch. d'Ophth. 1897. p. 273.)
25) Paterson and Ritchie, Notes on the bacteriological investigation of 30 cases of hypopyon-ulcer of the cornea. (The Scott. Med. and Surg. Journ. Vol. 15. 1904. p. 505.)
26) Paul, Ueber Hornhautulzerationen durch Diplobacillen. (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. XLIII. 1905. Bd. 1. p. 163.)
27) Pergens, Phlegmons de l'orbite; complications de l'influenza. (Annal. d'Oculist. T. 114. 1895. p. 279.)
28) Poplawska, Zur Aetiologie der Entzündungen des Auges nach Verletzung durch Fremdkörper. (Arch. f. Augenh. Bd. 22. 1891. p. 337.)
29) Pusey, Conjunctivitis associated with bac. pyocyan. in an adult: Bac. pyocyan. found in a normal conjunctival sac. (Arch. of Ophth. Vol. 37. 1908. p. 683.)
30) Salani, Ulcera corneale con ipopion da bacillo piocianico. (Ann. di Ottalm. Vol. 39. 1910. p. 474.)
31) Sattler, Ueber die im Tränensackeiter enthaltenen Infektionskeime und ihr Verhalten gegen Antiseptica. (Ber. über die 17. Vers. der Ophth. Ges. Heidelberg. 1885. p. 22.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

32) Sattler, Ueber Bacillenpanophthalmitis. (Ber. über die 21. Vers. der Ophth. Ges. Heidelberg. 1891. p. 201.)
33) — Ueber Bacillenpanophthalmitis. (Ber. über die 22. Vers. der Ophth. Ges. Heidelberg. 1892. p. 156.)
34) Schanz, Die Bakterien des Auges. (Unterrichtstafeln von Magnus 1897.)
35) Schmidt-Stoewer, Ueber das Vorkommen infektiöser äußerer Augenentzündungen im westfälischen Industriebezirk. (Arch. f. Augenh. Bd. 45. 1902. p. 93.)
36) Selenkowsky, Zur Entstehung der sympathischen Ophthalmie. (St. Petersb. Ophth. Ges. 30. Sept. 1899; Wratsch XX. 1900. p. 1213.)
37) Smith, Infection of the eye. (Arch. of Ophth. XXXV. 1906. Vol. 35. 4. p. 356; Ref. im Arch. f. Augenh. Bd. 57. 1907. p. 241.)
38) Stephenson, Ophthalmia neonatorum. London 1907. p. 62.
39) Stock, Experimentelle Untersuchungen über Lokalisation endogener Schädlichkeiten, besonders infektiöser Natur im Auge, zugleich ein Beitrag zur Frage der Entstehung endogener Iritis und Chor., sowie der sympathischen Ophthalmie. (Klin. Monatsbl. f. Augenh. XLI. 1903. Bd. 1. p. 81.)
40) Szczybalski, Ein Fall von Ulcus corneae durch Infektion mit Bac. pyocyaneus. (Arch. f. Augenh. Bd. 51. 1905. p. 249.)
41) Terson et Cuénod, Bactériologie clinique de l'appareil lacrymal. (Gaz. des Hôpit. 1895. p. 411.)
42) Tertsch, Ueber den Ringabszeß der Cornea. (v. Graefes Arch. f. Ophth. Bd. 73. 1910. H. 2. p. 314.)
43) Woyzechowsky, Zur Frage der metastatischen Augenaffektionen bei lokaler und allgemeiner Infektion. (Sitzungsber. der St. Petersb. Ophth. Ges. 31. Jan. 1902; Ref. in Klin. Monatsbl. f. Augenh. XL. 1902. Bd. 2. p. 61.)

Nachdruck verboten.

Eine Bemerkung zur Arbeit des Herrn Raubitschek: „Zur Kenntnis der Pathogenese der Pellagra".

Von Prof. Dr. **J. Horbaczewski,** Prag.

Zu der unter obigem Titel im 3. Hefte des 57. Bandes dieser Zeitschrift, welches am 7. Januar 1911 erschien, enthaltenen Arbeit erlaube mir Nachfolgendes zu bemerken:

Im Sommer v. J. habe ich eine Untersuchung unter dem Titel: „Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Aetiologie der Pellagra" veröffentlicht, die in der Zeitschrift „Das österreich. Sanitätswesen" als Beilage zu No. 31, 4. August 1910, erschien. In derselben wird über Versuche berichtet, die im März 1909 begonnen wurden, von denen einige ununterbrochen bis zur erwähnten Publikation und auch länger dauerten und noch weiter fortgesetzt werden. Bei den einzelnen, insbesondere länger dauernden Versuchen ist das Datum des Beginns sowie des eventuellen Endes der Versuche in der Regel ganz genau angegeben. Welche Erwägungen bei der Anstellung dieser Versuche maßgebend waren und wie der Plan derselben gefaßt wurde, ist ebenfalls des näheren angeführt.

Nun bemerkt Herr Raubitschek am Schlusse seiner früher angeführten Publikation: „Schließlich erschien noch ein Artikel von Horbaczewsky, der mit fast identischer Versuchsanordnung zu den nämlichen Resultaten gelangt ist, wie ich. Ich kann deshalb seine Untersuchungen mit um so größerem Recht als die erste Bestätigung meiner Befunde ansehen, als der genannte Autor auch meine Schlußfolgerungen, die ich aus meinen Experimenten bezüglich der Pellagraätiologie zog, akzeptierte."

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vorausgeschickt muß werden, daß Herr R. im Sommer v. J. in der Wiener klin. Wochenschr. No. 26 vom 30. Juni 1910 eine vorläufige Mitteilung über seine Beobachtungen erscheinen ließ. Diese Mitteilung wurde mir vor der Publikation meiner Arbeit, die bereits im Juni 1910 fertiggestellt und anfangs Juli zur Veröffentlichung übergeben wurde, nicht bekannt, und aus diesem Grunde wurde dieselbe in meiner Publikation gar nicht erwähnt.

Da eine andere Publikation des Herrn R. mir unbekannt ist und auch von demselben gar nicht erwähnt wird, muß Herr R., der für die oben angeführte Aeußerung verantwortlich ist, offenbar annehmen, daß ich meine Versuche begonnen und ausgeführt habe auf Grund der in seiner vorläufigen Mitteilung geäußerten Anschauungen, die 16 Monate später veröffentlicht wurden.

Ganz abgesehen von dem Umstande, daß meine Resultate und Ansichten keineswegs identisch sind mit denjenigen des Herrn R., geht aus dem Vergleiche der vorläufigen Mitteilung des Herrn R. mit meinem Artikel zweifellos hervor, daß Herr R. nicht die geringste Berechtigung hatte, eine derartige Behauptung vorzubringen.

Dieselbe muß daher auf das entschiedenste zurückgewiesen und dem Bedauern Ausdruck verliehen werden, daß eine solche Behauptung in einer ernst zu nehmenden Publikation vorkommen kann.

Prag, im Januar 1911.

Nachdruck verboten.

Ueber die feinere Morphologie der Kurloff-Körper des Meerschweinchens und ihre Aehnlichkeit mit Chlamydozoen-Einschlüssen.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg.]

Von Dr. **V. Schilling**-Torgau, Assistenzarzt, kdt. zum Institut.

Mit 2 Tafeln.

Leber und v. Prowazek[1]) haben soeben eine neue Chlamydozoenkrankheit publiziert, die dem Trachom nahe verwandt sein soll, aber nach den Abbildungen deutlichere Bilder der Einschlüsse in den Epithelzellen liefert. Der dort abgebildete Entwickelungsgang der Zelleinschlüsse zeigt eine große Aehnlichkeit mit einem von mir vermuteten Entwickelungsprozeß der sogenannten Kurloff-Körper des Meerschweichens, die ich seit meinen ersten Arbeiten[2]) über diesen Gegenstand ständig im Auge behalten habe und seit längerer Zeit eingehender an größerem Materiale und mit modifizierten Methoden studiere. Da meine Infektionsversuche noch geraume Zeit erfordern werden, komme ich der abschließenden zusammenfassenden Arbeit mit diesen Mitteilungen zuvor.

Die sogenannten Kurloff-Körper sind nach ihrem Entdecker benannte eigentümliche Einschlüsse in den großen Mononukleären des

1) Leber u. v. Prowazek, Berl. klin. Wochenschr. 1911.

2) Schilling, V., Ueber Kurloffsche Körperchen beim Meerschweinchen. (Fol. haemat. Bd. 7. Heft 4.)

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchens, die anfangs für diese Tierklasse als ganz spezifisch galten, später aber auch vereinzelt bei Ratten und Mäusen (Cesaris-Demel) gefunden wurden. Sie geben der Zelle ein sehr charakteristisches Aussehen, indem sie als wechselnd große runde oder ovale durchsichtige Masse den Zellkern beiseite drängen und einbuchten, das Protoplasma zu einem schmalen Saum gestalten und meist durch eigentümliche leuchtende Färbung, resp. absolut klares ungefärbtes Aussehen sofort ins Auge fallen (s. Abbild. 1—3). Kurloff und Ehrlich[1]) hielten sie für physiologische Sekretvakuolen und maßen ihnen bei der Einteilung der lymphoiden Zellen einen wesentlichen Wert zu, indem sie die „vakuolisierten" Zellen für eine abzusondernde Zellart, die großen Mononukleären, erklärten.

Aus der umfangreichen Literatur, die sich besonders nach der Wiederentdeckung durch Cesaris-Demel[2]) entwickelte, sollen hier nur die einschneidendsten Tatsachen erwähnt werden; eine eingehendere Kritik behalte ich mir für meine spätere Arbeit vor.

Die größte Anzahl der Autoren folgte der ersten Erklärung Kurloff-Ehrlichs, hielt die Einschlüsse für Sekretvakuolen und beschäftigte sich mit Bestimmung der Prozentzahlen und der Farbreaktion. Durch die Anwendung der vitalen Färbung (Cesaris-Demel) wurde die Frage theoretisch näher gerückt, ob die Gebilde belebtes oder unbelebtes Protoplasma enthielten. Allerdings zweifelten viele Autoren die Realität der groben Fleckungen an, die durch Brillantkresylblau in den sonst als durchaus homogen angesehenen „Sekretvakuolen" zum Vorschein kamen (Pappenheim[3]) u. a.). Die Lehre von ihrer Homogenität war so fest begründet, daß meine Mitteilung über granulierte Formen der Kurloff-Körper trotz Demonstration[4]) wenig Anklang fand und Pappenheim in einer Randnotiz zu meiner Arbeit (l. c.) diese Granula für Kunstprodukte erklärte, hervorgerufen durch Alkoholfixation, während er durch Hitzefixation die wahre kompakte Gestalt erreicht haben wollte. Mittlerweile scheint Pappenheim-Ferrata[5]) sich von dem Vorhandensein der granulierten Formen, die ich für die häufigsten und wesentlichsten hielt, überzeugt zu haben, denn sie geben 5 solche Formen (Taf. II, 73—77) wieder, allerdings ohne meinen Namen zu nennen. Uebrigens haben auch andere Autoren schon granulierte Formen gesehen (z. B. Patella), meines Wissens aber nicht die ganz feinen Granulationen guter Giemsa-Färbung nach Methylalkoholfixierung. Pappenheim-Ferrata haben dann folgerichtig für die Sekretvakuolentheorie die Kurloff-Körper als besonders große azurophile Einschlüsse angesehen, wie sie kleiner für alle Lymphoidzellen bei allen höheren Tieren als „Plasmosomen" bekannt sind. Ferrata hat daraus auf eine Zusammengehörigkeit aller Lymphocyten geschlossen. Diese durch nichts als eine oberflächliche färberische Aehnlichkeit der kleinsten Formen der Kurloff-Körper mit den Azur-Plasmosomen bewiesene Identität möchte ich mit Entschiedenheit ablehnen. Die Frage der Kernabkunft, die

1) Ehrlich-Lazarus, Anämien. 1898.
2) Cesaris-Demel, Virchows Arch. Bd. 195. p. 1 (Zusammenfassung).
3) Pappenheim, Fol. haem. Bd. 5 mit Taf. III.
4) Schilling, V., Demonstrationsvortrag. (Berl. Hämatol. Gesellsch. 1909; Fol. haem. Bd. 7. 7. Sitzungsber.)
5) Pappenheim-Ferrata, Fol. haem. Bd. 10. Heft 1. 1910.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Pappenheim (auch Cicaccio, Anat. Anz. 1907) vertreten wird ist bis jetzt schwer zu entscheiden.

Eine andere Autorengruppe (Patella[1]) und seine Schüler) sah sich, durch die schwankenden Befunde in betreff der Zahl der Kurloff-Körper in der Blutbahn, durch ihr Fehlen bei ganz jungen Tieren und Embryonen und durch ihr fremdartiges Verhalten in ihren Trägerzellen zu der Annahme geführt, daß es sich um protozoische Einschlüsse trotz des anscheinend ubiquitären Vorkommens handeln könnte. Patella will das Auftreten von beweglichen Formen, sogar in wenigen Fällen kleine Flagellaten, beobachtet haben. Indem er die Verklumpungsbilder unzureichender Fixationen für Kern, den Vakuolenrest für Protoplasma ansah, schien ihm der Beweis für die Protozoennatur geführt, obgleich das färberische Verhalten in sämtlichen bekannten Methoden nichts für Flagellaten Typisches bietet. Aetiologisch will Patella auf Endivienfutter der Meerschweinchen gleiche Flagellaten gesehen haben.

Die letzte Gruppe der Autoren, die, mit der verschiedenen Häufigkeit der Kurloff-Körper und ihren seltsamen Farbreaktionen bekannt, sich aus den angeführten Gründen für die Protozoennatur nicht entscheiden konnte, suchte in der Phagocytose eine plausiblere Erklärung. Cesaris-Demel neigte zu dieser Ansicht infolge von Befunden bei der Vitalfärbung (l. c.), die durch die Intensität der Farbaufnahme an nekrotische Protoplasma- oder Kernteile denken ließen. Auf Grund einer Reihe von Infektionsversuchen[2]) mit Cholera Nasig-Vibrionen, die in das Peritoneum der Meerschweinchen injiziert wurden, gelangte ich (l. c.) gleichzeitig zu derselben Ansicht. Kurz nach der Infektion beobachtete ich eine Zunahme der Kurloff-Körper im Kreislauf, die ich auf die mehr als 6-fache schätzte und durch Ausschwemmung aus Milz und Mark erklärte, wo man stets trotz Mangel im Blute große Ansammlungen von Kurloff-Körpern entdecken kann. Im Bauchfellexsudat treten 48 Stunden später bei subletaler Dosis des Vibrio Nasig in das Peritoneum massenhaft Makrophagen auf, die sich auf die angesammelten Leukocyten stürzen und sich mit ihnen beladen. Im Gegensatz zu Benthmann und Günther[3]), die bei Trypanosomeninfektion ähnliches beobachteten, muß ich betonen, daß man niemals echte Kurloff-Körper in den Exsudaten findet, außer sporadisch durch Uebertritt aus dem Blute, daß mithin die Behauptung der direkten Umwandlung aus gefressenen Leukocyten kaum richtig sein kann. Ich habe diese Beschränkung auf die Blutbahn durch eine Phagocytose spezifischer, hämatopoetischer, vielleicht erythrocytärer Gebilde zu erklären versucht, mit denen sie in der Tat in vielen Färbungen z. B. Hämatoxylin-Eosin, Giemsa, Dominici u. a. größte Aehnlichkeit besitzen. Dazu kommt ein gewisser oft bemerkbarer grünlich-gelblicher Schimmer in den glänzenden Gebilden bei Vital- und Dunkelfeldbetrachtung. Dennoch glaube ich auch diese Hypothese jetzt nicht mehr halten zu können.

1) Patella, Corpi di Kurloff-Demel etc. Siena 1907.
2) Die Versuche wurden mit Prof. Morgenroth zu anderen Zwecken ausgeführt.
3) Benthmann und Günther, Beih. z. Arch. f. Schiffs- und Tropenkrankheiten. Bd. 11. 1907. p. 44.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Natürlich mußte man bei dieser Hypothese gleichzeitig eine „Entwickelung“ von großen zu kleineren Formen annehmen, falls überhaupt ein genetischer Zusammenhang bestand. Hiergegen ist mit Recht durch Pappenheim und Ferrata eingewendet worden, daß damit die natürliche Zellfolge umgekehrt würde, wie man sie bisher hämatologisch ansah. Ich habe mich überzeugt, daß bei den besten Fixierungen eine Altersveränderung der Kernstruktur bis zur Pyknose mit zunehmender Größe der Kurloff-Körper zu beobachten ist (Abb. 1, 2, 17, 18). Der Zusammenhang scheint aber nur ein loser, nicht absolut für jede Größe festliegender, doch will ich die genauere Beschreibung für meine spätere Arbeit vorbehalten.

Die wesentlichsten Gesichtspunkte, die sich bisher seitdem aus meinen an sehr großem Materiale und mit modifizierten Methoden ausgeführten Untersuchungen ergeben haben, sind folgende:

1) Wie ich schon bei meiner ersten Arbeit hervorgehoben hatte, ist es nur ein Teil der durchaus gleichartigen Zellen, welcher Kurloff-Körper enthält, so daß ihr Vorkommen ein temporäres oder akzidentelles sein muß.

Die Schwankungen in der Zahl der Kurloff-Körper sind unabhängig von der Zahl der Mononukleären.

2) Im allgemeinen bestätigte sich die alte Tatsache, daß schwangere Meerschweinchen reichlicher „infiziert“ sind, doch gab es auch Ausnahmen; die weiblichen Tiere besitzen ohnehin meist mehr als die männlichen.

3) Das völlige Fehlen echter Kurloff-Körper (mit allen Farbreaktionen) bei ganz jungen Tieren und Embryonen (Patella) kann durchaus bestätigt werden. Sie fehlen auch bei jungen nicht isolierten Tieren selbst in der Milz (die Altersgrenze steht noch nicht fest)[1]. Von einem völligen Fehlen der Trägerzellen, der Mononukleären ist natürlich keine Rede; auch Plasmosomen und Phagocytosen sind sehr reichlich zu finden.

4) Bei Tieren mit reichlichen Kurloff-Körpern ließ sich die Zahl bis zum fast völligen Verschwinden herabdrücken. Sie fehlten in der Blutbahn längere Zeit (2 Wochen) fast ganz und waren auch in der Milz sehr spärlich geworden. Von solchen Mitteln sei hier nur Phenylhydrazin erwähnt; die Versuche werden noch fortgesetzt. Gerade hierbei fanden sich natürlich sehr zahlreiche Phagocytosen und oft direkte Mononukleose!!

5) Die Kurloffschen Prozentzahlen (15—20 Proz.) sind nach unserem Tiermaterial viel zu hoch; vielleicht haben Kurloff und andere Untersucher die Plasmosomen teilweise mit hinzugerechnet. Die Zahlen bei uns schwanken zwischen 1 8—12 Proz., wobei letztere Befunde schon sehr selten sind; nur durch Ausschwemmung bei Leukocytosen kamen höhere Werte vor. Selbstverständlich könnte der Unterschied auch individuell für Tierstämme verschiedener Gegenden sein.

6) Durch Injektion großer Mengen von Kurloff-Körpern läßt sich keine Vermehrung bei Tieren mit geringer Zahl erzielen. Die Prozent-

1) Ich habe jetzt ein ausgewachsenes lebendes, lange isoliertes Meerschweinchen, das bisher niemals Kurloff-Körper im Blute aufwies. Ein vor dem Werfen sehr reichlich „infiziertes“ Meerschweinchen, das isoliert wurde, starb 1 Monat später spontan und war selbst in der Milz absolut frei von Kurloff-Körpern!

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

werte zeigen überhaupt, von Schwankungen abgesehen, oft individuelle Konstanz über Wochen hin.

7) In die Bauchhöhle injizierte Kurloff-Körper verschwinden sehr schnell. Eine Infektion der Exsudatzellen nach Aleuronat-Einspritzung gelang bisher nicht mit Sicherheit.

8) Die Züchtung der Kurloff-Körper mißlang auch auf Novy-Agar.

9) Während bei Meerschweinchen bei uns der Befund konstant ist, kamen bei Ratten und Mäusen die Kurloff-Körper nur sehr selten und spärlich zu Gesicht. Indessen wurden ähnliche typisch färbbare Gebilde bei anderen Tieren gefunden (1 von 15 Hundemilzen, 1 von 9 Froschmilzen). Die Befunde blieben bisher isoliert, auch war die Morphologie der Gebilde nicht absolut gleich.

Die Versuche über die „Infektion" sind noch nicht abgeschlossen.

Diese Feststellungen enthalten im wesentlichen Bestätigungen bekannter Beobachtungen, resp. eine Erweiterung derselben, dagegen konnten morphologisch neue Befunde erhoben werden.

Die Untersuchungen wurden an operativ entnommenen Milzen und Knochenmark oder an frischen Blutstropfen ausgeführt. Für die Farbreaktionen wurde das Material in warmem Sublimatalkohol feucht fixiert oder direkt vital gefärbt.

Für das Verhalten gegen die bekanntesten Färbungen ergab sich

10) Die Kurloff-Körper sind:

a) Ungefärbt homogen durchsichtig: im natürlichen Zustande und im Dunkelfeld (bis auf spärliche zarte, rötliche Pünktchen (V. Schilling, l. c. 6) bei Hämatoxylin (Abb. 1 u. 2) Alaunkarmin u. a. guten Kernfarben, bei den Fettfärbungen (Osmium, Sudan, Nilblausulfat).

b) Homogen gefärbt in fixiertem Zustand durch
- Eosin (rot),
- Eosin-Orange (rot gegen gelbrote Erythrocyten),
- Giemsa-Lösung (bei feuchter Fixation ohne Anwendung von Natriumthiosulfat in Aceton) azurophil-rötlich,
- Azur II dgl. (Abb. 3),
- Dominici-Färbung meist spezifisch violett-rot,
- Heidenhain-Eisenhämatoxylin meist grau bis schwarz. (Dazu noch weniger bekannte Färbungen.)

c) Fixiert mit farblosen, oft lichtbrechend kleinen Lücken von Körnchen- und Stabform im gefärbten Grunde: gelegentlich bei den unter b) genannten Färbungen, besonders bei Osmium-Dampffixierung.

d) Mit einem anders reagierenden Innenkörper (?) versehen bei Giemsa-Färbung (neueste Methode) in Ausstrichen mit Osmium-Dampffixierung (undeutlich rötlich, Abb. 19).

Bei Dominici-Färbung stellenweise im Schnitt: ungefärbte ein- oder vielfache Vakuolen mit aufgelagerten gefärbten Partikeln („Kern"), Abb. 17, 18, im rotvioletten Grunde, in übertriebenen Vitalfärbungen, bei Hitzefixation (Abb. 16), bei Gentianaviolett-Essigsäure (Leukocytenzählflüssigkeit) etc.

e) Mit groben Granulationen und Stäbchen versehen
- im Schnitt selten bei Dominici, öfter bei Eisenhämatoxylinfärbung,
- bei vitaler Brillantkresylblau-Färbung konstant (Pappenheim, Cesaris-Demel u. a),
- unfixiert oder schlecht fixiert (Hitze, Alkohol-Aether) bei Giemsa-Färbung.

f) Fein granuliert
- im Ausstrich mit Giemsa-Methylalkohol-Fixierung (Schilling, Pappenheim, Ferrata),
- sehr schön bei der schnellen Aceton-Giemsa-Methode (Abb. 24) (auch Organausstrich) bei lange dauernder Vital-Azur-II-Färbung (mindestens $^1/_1$ Std.).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

g) Mit feinen Hantelkörpern, Schleifen, Fäden, Doppelkörnchen oder kompakten kleineren Gebilden (Abb. 4—15) bei vitaler langsamer Azur-II-Färbung). (Azur II ist ein langsam wirkender Farbstoff gegenüber dem Brillant-Kresylblau etc., stört weniger die Struktur (z. B. Erythrocyten, Kerne) seine Färbungen halten stundenlang an und neigen sehr stark zur Metachromasie).

11) Die Verteilung der Kurloff-Körper im Tierleib wurde an Schnitten im Ausstrich studiert, das sporadische Vorkommen in Drüsen und Mark (Cesaris-Demel, Cicaccio) bestätigt, in der Milz eine deutlich herdförmige Ansiedelung festgestellt, so daß Strecken frei von Kurloff-Körpern, andere dicht gedrängt mit ziemlich gleichartigen Stadien erfüllt scheinen. Der Sitz scheinen ausschließlich freie Pulpazellen zu sein.

12) Als Ausgangspunkt für die Entstehung der Kurloff-Körper, die jetzt aufsteigend angenommen wird, wurden kleine kompakte, azurophile, strengbegrenzte Körperchen angesehen (Abb. 4). Diese tauchen unmittelbar am Kern in einer Vakuole auf, neben der oft anliegend die Zellzentren sichtbar sind. Sie ähneln durchaus dem Siegelschen[1]) Cytoryctes variolae oder kleine Guarnierischen Körperchen (Abb. 20, 21), wie sie sich in Vitalfärbung (Azur II) im Tupfpräparat von frisch vaccinierter Kaninchencornea zeigen (3. Tag).

13) Die weitere Entwickelung scheint folgendermaßen zu verlaufen (nach Azur-II-Färbung vital).

Der kompakte Anfangskörper teilt sich in zwei, drei und vier kleinere kompakte Gebilde (Abb. 5, 6, 7).

Die groben Klümpchen wachsen zu Stäbchen oder Hanteln (Abb. 8, 9, 10) aus, deren Zahl sich unregelmäßig mit der wachsenden Größe vermehrt.

Die groben Hanteln werden zu feineren Stäbchen mit Endknöpfchen (Abb. 11 u. 12). Außerdem gibt es anscheinend Zwischenstadien mit ganzen Fadenknäueln, spirochätenartigen Fäden (Abb. 15) und zarten Spindeln, die, weil selten, noch nicht eingereiht werden können.

Die Fäden und Hanteln zerfallen in zahllose kleine, sehr regelmäßige Hantelchen bis fast zur Diplokokkenform (Abb. 13, 14).

In dem flüssigen Vakuoleninhalt sind noch sehr feine Granulationen sichtbar, die wahrscheinlich erst mit den Körnchen der Giemsa-Azetonmethode identisch sind (Abb. 22). Sie treten erst bei längerer Vitalfärbung schwach-bläulich auf, während die bisherigen Strukturen dunkelbläulich-azurophil erscheinen. Vielleicht sind gröbere rötliche Granula der Giemsa-Präparate (Abb. 24) identisch mit den vitalen Strukturen, die feineren Körnchen erscheinen oft mehr lila. Ziemlich sicher identisch mit den Vitalstrukturen sind die feinen farblosen Lücken der unter 10c aufgeführten und die gröberen Körnchen 10e. An gut fixiertem Material findet man ungefärbt oft recht deutlich an der Oberfläche die Hantelkörperchen durch schwache Lichtbrechung; ebenso geht der Vitalfärbung ein kurzes Stadium vorher, wo man eher von veränderter Brechung als schon von Färbung reden kann.

14) Es gibt Zerfallsformen, bei denen die Körnchen frei ins Protoplasma treten, während der Zellkern degenerativ-pyknotisch zugrunde geht. Die gröberen Elemente bleiben anscheinend im Vakuolenrest oder in der Nähe liegen. Man kann lebhafte

1) Siegel, Anh. z. d. Abh. d. Kgl. Preuß. Akad. der Wiss. 1905.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

molekulare Bewegung der Körnchen, manchmal schon im Einschluß, konstatieren.

15) Die Umrandung der Kurloff-Körper ist in guter feuchter Fixierung und im natürlichen Präparate stets absolut scharf gegen das Protoplasma abgegrenzt (wie ein Oeltropfen im Wasser; Lipoidmembran?). An der Grenze zum Kern hin sind die Zentren oft sehr deutlich lichtbrechend oder gefärbt zu konstatieren. Die Kurloff-Körper können frei existieren, d. h. sie sind nicht einfach Vakuole; bei Quetschung teilen sich oft kleine rundliche Partikel ab, die je ein Hantelstäbchen enthalten, so daß mehr eine gallertige Beschaffenheit angenommen wird.

Bewegungen sind anscheinend nur osmotischer oder molekularer Natur und selten wahrnehmbar.

Die kurze Zusammenfassung und ein Vergleich mit Chlamydozoeneinschlüssen 11, 12 würde also ergeben:

Die Kurloff-Körper sind abnorme Zelleinschlüsse.

Sie leiten sich von einem kompakten, abgerundeten, kernanliegenden Gebilde ab und zeigen innige Lagebeziehungen zu den Zentren (s. o.). Ob diese Gebilde ausgestoßene Nukleolen sind, soll hier noch nicht definitiv entschieden werden, obgleich manche morphologische Bilder dafür sprechen (s. Abb. 20).

Sie machen eine komplizierte Entwickelung durch und besitzen statt der behaupteten homogenen eine zusammengesetzte, konstante Struktur (flüssiger Vakuoleninhalt, vielleicht gallertig; gröbere Filar-, Stäbchen- oder kompakte Strukturen; ganz feine Körnchen; vielleicht einen zentralen Innenkörper).

Sie sind sicher keine Flagellaten der bisher bekannten Arten (Leukocytozoen etc.); sie sind kaum phagocytisch verarbeitete Produkte.

Sie besitzen keine für Protozoen- oder Metazoenkerne charakteristische Farbreaktionen. Azurrot allein ist kein Kernfarbstoff im engeren Sinne, sondern färbt viele Protoplasmateile, deren Kernabkunft noch hypothetisch ist. Die große Mannigfaltigkeit ihrer Erscheinungsform beruht anscheinend auf schlechter Durchdringungsfähigkeit der Grundsubstanz im fixierten Zustande, resp. großer Veränderlichkeit und schlechter Färbbarkeit der Strukturelemente (Auflösung, Verschmelzung etc.).

Sie weisen in ihrer feineren Zusammensetzung, in manchen Färbungseigentümlichkeiten und in ihrer Entwickelung die größte Aehnlichkeit mit Chlamydozoeneinschlüssen verschiedener Art auf. (Vgl. Abb. 4 mit 20 u. 21, Abb. 22 mit 23, Abb. 24 mit den bekannten Bildern der Trachom-Einschlüsse, die ganze Reihe mit Leber-v. Prowazeks[1]) Arbeit.)

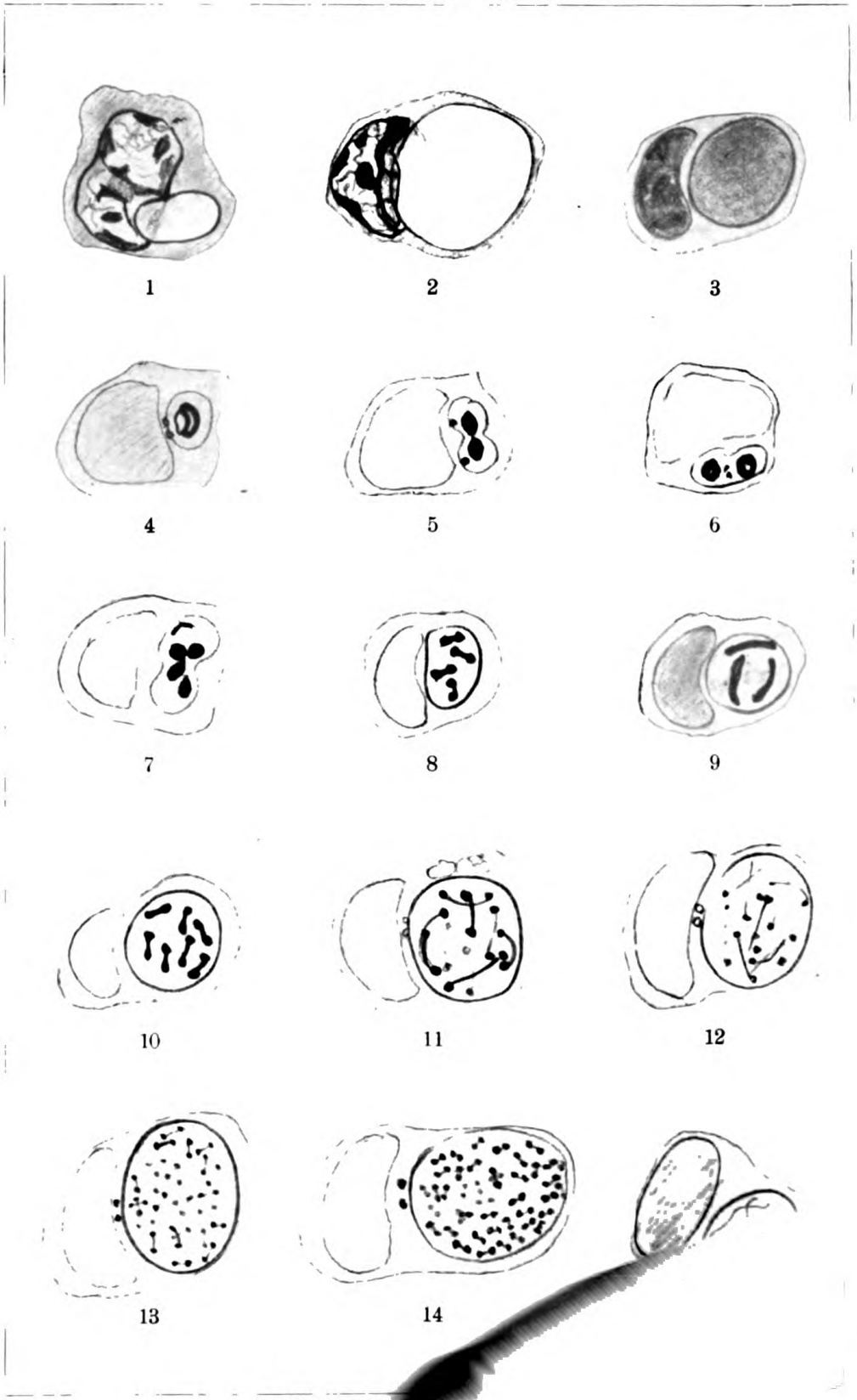
1) v. Prowazek, Die Chlamydozoen als intracelluläre „symbiotische" Krankheitserreger. (Ergebn. der wissenschaftl. Med. Zusammenfassung. 1910.)
Vgl. auch Hartmann, Schuberg, Flemming und Schubert, Centralbl. f. Bakteriol. Referate. Bd. 47. 1910. Sitzungsber. p. 94 u. ff.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



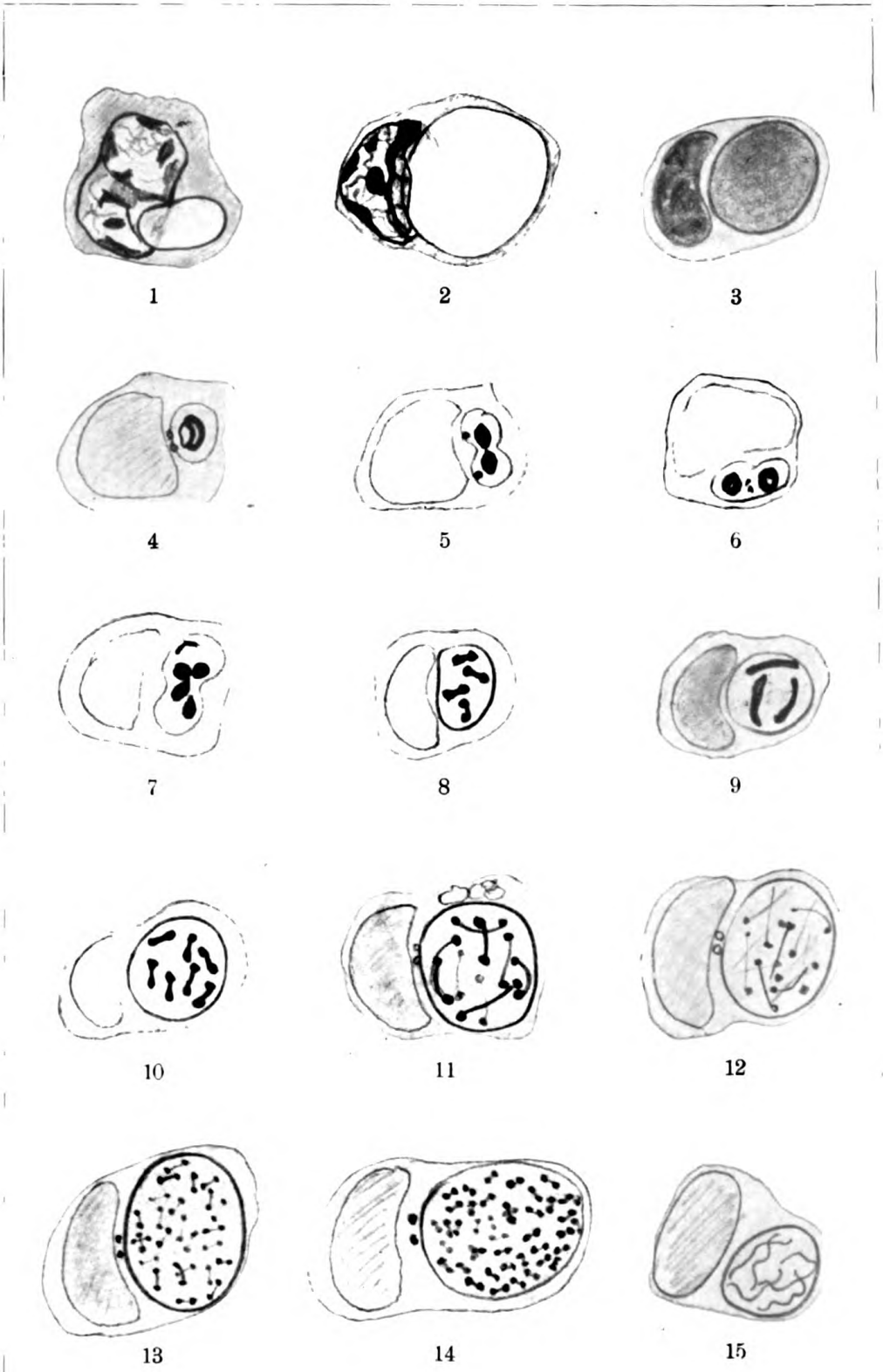
Verlag von Gu

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

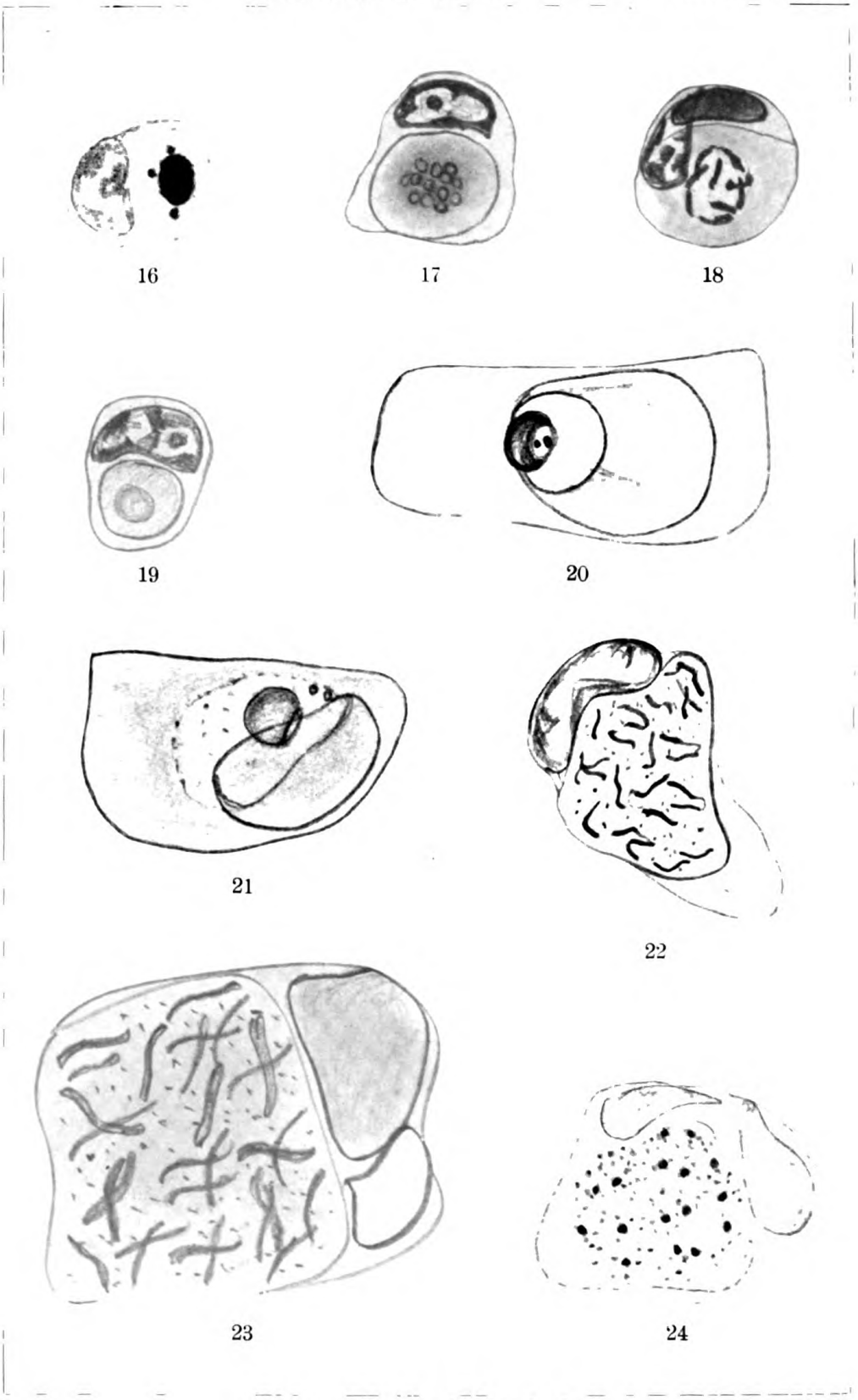
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das epidemiologische Auftreten spricht keineswegs gegen diese Aetiologie, da z. B. in der Karpfenpocke eine ähnliche chronische und in vielen Gegenden fast physiologische Chlamydozoen-„Symbiose" bekannt ist. Die spezifische Beschränkung auf wenige Tierarten und auf eine Zellart ist ebenfalls nur ein günstiger Umstand.

Zu einer Entscheidung sind die Infektionsversuche noch abzuwarten.

Die „Erreger" würden natürlich auch hier die kleinen „ultravisiblen" Körnchen sein, während die Identifizierung der Schleifen, Hanteln etc. mit den v. Prowazekschen Initialkörpern naheliegt. Allerdings neige ich dazu, meine gröberen Gebilde vorläufig bei den Kurloff-Körpern mehr als von der Zelle erzeugt anzusehen, besonders solange ihre eventuelle Kernabkunft nicht abgewiesen ist.

Zum Schluß sei auf eine ganz auffallende, leider erst einmal beobachtete Form eines Vaccine-Einschlusses auf der Kaninchencornea hingewiesen (Abb. 23), der geradezu absolute Identität mit den größten Kurloff-Körpern der Blutbahn (Abb. 22) aufwies, bis auf die etwa fünffache Größe. Diese Untersuchungen werden fortgesetzt.

Hamburg, den 2. Februar 1911.

Notiz: Nach Niederschrift der Arbeit trifft Casagrandis[1]) letzte Mitteilung ein. Die von ihm gefundenen „nadelartigen" Formen sind sehr interessant für die weitere Analogie, obgleich er anscheinend nur sehr wenige in den Cytorycten gefunden hat. Das über Färbung und Fixierung Gesagte ist ebenfalls recht ähnlich, vor allem der lilafarbene Ton der Körnchen (C. braucht dieselbe Farbbezeichnung). Hinsichtlich der Dunkelfeldbefunde sind meine Untersuchungen noch nicht beendet. Näheres Eingehen behalte ich mir für später vor.

Tafelerklärung.

(Die Bilder sind nach den Präparaten mit Bleistift skizziert; von Abb. 23 war nur eine Aquarellskizze nach dem Vitalpräparat noch vorhanden.)

Tafel I.

Abb. 1 u. 2. Hämatoxylin-Eosin; Sublimat-Alkohol feucht fixiert: kleiner und großer Körper.

Abb. 3. Azur-II-Färbung im Ausstrich, feucht fixiert.

Abb. 4—7. Kompaktes erstes Stadium
Abb. 8—10. Erste dickere Hantelbildung
Abb. 11—12, 15. Fädige Uebergangsstadien
Abb. 13, 14. Kleinhantelförmige Schlußstadien
} Azur-II vital.

Tafel II.

Abb. 16. Kompakter Verschmelzungs-„Kern" (Kunstprodukt), Hitzefixation, Giemsa.

Abb. 17, 18. Dominici-Färbung (Eosin-Orange, Toluidinblau). „Kernartige" Innenkörper; Milz, Schnitt.

Abb. 19. Innenkörper? Osmiumdampf, Ausstrich Milz. Giemsa-Färbung.

Abb. 20, 21. Kleine Guarnierische Körper der Kaninchencornea. In 20 deutliche Kernstreifung nach dem Körperchen zu. Azur-II-Vitalfärbung. 21 feine rötliche Granula in der Vakuole.

Abb. 22, 23. Azur-II vital: Kurloff-Körper (22) der Blutbahn (sehr ausgebreitet) mit Körnchen und ähnlicher Einschluß bei Vaccine der Kaninchencornea (23).

Abb. 24. Feingranulierte Form. Zweikernige Zelle (häufig). Zwischen den feinen lilafarbenen Körnchen mehr rötliche gröbere Partikel. Giemsa-Aceton-Schnellfärbung; Blutausstrich.

1) Zur Aetiologie der Menschenpocken. (Centralbl. f. Bakteriol. Orig. Bd. 57. Heft 5.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Parasitologische Studien aus Kamerun.

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin (Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky).]

II. Mikrofilarien von einem Haushuhn.

Von Stabsarzt Dr. **Berké.**

Mit 1 Tafel.

Im September 1909 wurde mir in Bare aus Manenguba im Graslande und 900 m ü. M. ein eben geschlachtetes Haushuhn vorgezeigt, weil seine Leber hochgradig erkrankt war. An dem schon mehrere Wochen auf dem Hofe lebenden Tiere waren aber Anzeichen von Erkrankung nie bemerkt worden.

An der Leber sah ich eine große Anzahl kleinster, weißlich bis gelblich gefärbter, mit Flüssigkeit gefüllter Bläschen, die teils an der Oberfläche der Leber lagen, teils ihr Inneres durchsetzten.

Ich machte sofort noch mehrere Blutausstriche von peripherem und von Leberblut und untersuchte diese noch am gleichen Tage nach Färbung mit Giemsa-Lösung. In dem peripheren Blut waren Würmchen-, bezw. Mikrofilarien-ähnliche Gebilde und zahlreiche kleine, teils gekrümmte, teils gerade Stäbchen enthalten. Die Stäbchen waren gut gefärbt, etwas dunkler als das Plasma der Blutkörperchen, ihr Inneres durch dunklere und hellere, teils punktförmige Schattierungen ausgezeichnet, die aber keine bestimmte Struktur erkennen ließen. Manche von den Stäbchen hatten Fragezeichengestalt und waren an ihrem einen Ende etwas dicker als an ihrem anderen. In dem Leberblut waren diese Stäbchen nicht zu sehen, wohl aber die Mikrofilarien.

Herr Prof. Cl. Schilling, dem ich im Januar v. J. Blutausstriche gesandt habe, bezeichnete die wurmähnlichen Gebilde als Mikrofilarien und wies auf ihre Aehnlichkeit mit denjenigen hin, welche Neave bei einem Perlhuhn und einem Raubwürger, bezw. beim Nashornvogel im ägyptischen Sudan gefunden und im Second Report of the Welcome Research Laboratory, Khartoum 1906, beschrieben hatte, ohne sie näher zu benennen. Bezüglich der Stäbchen äußerte Prof. Schilling, daß sie möglicherweise Embryonen einer jener beiden Filarienarten seien. Meine hier am Institut für Infektionskrankheiten unter Leitung von Prof. Schilling später fortgesetzten Untersuchungen des aus jenem Haushuhn stammenden Materials ergaben, daß in dem nach Romanowsky und mit Hämatoxylin nachgefärbten Präparat die größte Art der Filarien (s. Fig. I) nur in beschränkter Zahl vorhanden ist, keine Scheide hat und nach meinen Messungen 110—130 μ lang, bis 15 μ dick ist. Sie fällt besonders durch ihre Dicke auf, die ihr ein plumpes Aussehen gibt, und läßt, da sie die Farbe gut angenommen hat, nur an den dünneren Körperpartieen Einzelheiten erkennen. Hier sieht man dunklere Flecke, welche Körnern gleichen. Ihr größter Dickendurchmesser liegt jeweils auf der Grenze des ersten und zweiten Drittels, so daß der eine Körperabschnitt, welchen ich als den vorderen bezeichnen will, sich rascher nach seinem abgerundeten Ende zu verjüngt, als der andere, welcher schlanker und spitz ausläuft. Im vorderen Körperdrittel liegt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine schmale, ringförmige Zone, die sich deutlich und hell abhebt; sie darf wohl in Analogie gesetzt werden mit jenen Lücken, welche man bei den bekannteren Mikrofilarien mit dem Nervensystem identifiziert. In der vordersten Partie und im letzten Drittel sind vielfach gekrümmte, heller durchleuchtende, dünne Schläuche zu erkennen, die auf eine innere weit entwickelte Organisation schließen lassen. Dagegen fehlen jene, bei anderen Filarien so charakteristischen rundlichen, hellen Flecke, die bei diesen den Exkretionsporus etc. andeuten. An einzelnen Körperpartieen der vorliegenden Filarie ist eine feine Querringelung zu unterscheiden.

Die zweite, etwas kleinere und dünnere Mikrofilarie, welche neben jener vorbeschriebenen großen viel zahlreicher auftritt, zeigt den für Mikrofilarien charakteristischen Bau in allen Einzelheiten. Sie hat, wie die erste Art, keine Scheide; auch die Nachfärbung mit Hämotoxylin hat nirgends eine gefärbte Hülle zum Vorschein kommen lassen; die auf der beigegebenen Zeichnung II sichtbaren ungefärbten Zwischenräume sind durch Schrumpfung der Blutschicht beim Austrocknen des Präparates entstanden.

Die Mehrzahl dieser zweiten Art von Mikrofilarien, welche sich von der ersten großen Art wohl unterscheidet, ist nach meinen Messungen 75—90 μ lang und 3—5 μ breit; nur wenige gehen auf 60—65 μ herunter. Ihre Enden sind abgerundet; ihr Inneres weist eine Menge kleiner, dichtgedrängter Kerne auf, die eine typische Anordnung nicht erkennen lassen; an drei bis vier Stellen fehlen diese Kerne, so daß hier helle Flecke vorhanden sind, die bei allen Exemplaren ungefähr gleiche Abstände voneinander haben und mit dem bei anderen Filarien beschriebenen Exkretionsporus, bezw. dem Nervensystem gleichzusetzen sind (s. Fülleborn-Rodenwaldt in Realenzyklopädie der gesamten Heilkunde. 4. Aufl. Ueber Filarien).

Die kleinen, stäbchenförmigen Gebilde endlich sind 8—15 μ lang, ca. $^3/_4$ μ dick. Sie haben teils die Gestalt eines Kommas, teils die eines Fragezeichens, andere sind mehrfach gekrümmt; bei einigen ist das eine Ende dicker als das andere. Sie färben sich kräftiger als das Plasma der kernhaltigen roten Blutkörperchen. Differenzierungen des Innern sind bei einigen insofern schwach angedeutet, als in ihnen hellere und dunklere Punkte, die aber keine Körner oder Chromatin sein dürften, zu erkennen sind. Bei manchen hat es den Anschein, als ob sie röhrenförmig, d. h. innen hohl seien; ich habe sie nur im peripheren und im Milzblut angetroffen, dagegen nicht in den Ausstrichen von Leberblut.

Die mikroskopische Untersuchung von Leberschnitten hat nur Zerfallsherde mit Leukocyten, auch Eiterzellen erkennen lassen, aber keine Beweise ergeben für die an sich ja wahrscheinlichen Beziehungen der Bläschen in der Leber zu den im peripheren und im Leberblut vorgefundenen Mikrofilarien. Auffällig ist noch, daß das Tier trotz dieser großen Zahl von Bläschen und der dadurch ausgedehnten krankhaften Veränderung seiner Leber keine merkbaren Krankheitserscheinungen äußerte. Geschlechtsreife Filarien habe ich nicht finden können.

Die von dem travelling pathologist Neave in dem Second Report of the Welcome Research Laboratories. Khartoum 1906. Taf. XIX. p. 199 in Fig. „a“ beschriebene Filarie aus einem Guinea-fowl (Perlhuhn) ähnelt zwar in ihrer Körperform der größten unserer Filarien, erreicht aber nur eine Länge von höchstens 85 μ und besitzt eine Scheide; auch eine

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zweite, auf derselben Tafel unter „f“ angegebene, aus einem Marabou stammende Mikrofilarie stimmt in ihrer äußeren Gestalt mit der unsrigen ungefähr überein, ihre Maße werden aber dort mit nur 70 μ bis höchstens 104 μ angegeben, während die aus dem Huhn stammende Filarie 110—130 μ lang und bis 15 μ dick ist, so daß wir in unserer aus dem Haushuhn stammenden Mikrofilarie offenbar eine neue Art als vorliegend annehmen müssen.

Unsere zweite kleinere Mikrofilarie, welche sich in zahlreichen Exemplaren in dem Präparat findet, ist möglicherweise ebenfalls neu, obwohl sie in ihren Längenmaßen, 75—90 μ, bezw. 60—65 μ sich denen von Neave auch in einem Perlhuhn gefundenen und auf der Tafel XIXb des gleichen Bandes abgebildeten nähert; sie haben beide keine Scheide; doch hat die unsere zwei nahezu gleiche, abgerundete Enden, während die Neaves ein etwas aufgetriebenes rundes Vorderteil und einen spitz zulaufenden Schwanz hat.

Ueber die in dem peripheren Blut vorgefundenen zahlreichen kleinsten Gebilde (s. Zeichnung II u. III) kann ich kein bestimmtes Urteil abgeben. Die sehr wechselnde Gestalt — man sieht S-, V-förmige, andere sind einfach bogenförmig gekrümmt — spricht gegen ihre Bakteriennatur. Dagegen, daß wir Protozoen vor uns haben, wäre die homogene Färbung anzuführen. Doch sind nur zwei Methoden angewendet worden, weil zu weiteren Färbungen, die möglicherweise andere Resultate gegeben hätten, das Material mangelte. Der äußeren Form nach sind diese sehr zahlreichen kleinsten Gebilde am ähnlichsten kleinen Gregarinen. Daß sie aber nicht aus den Blutkörperchen stammen, d. h. keine endoglobulären Formen sind, muß deshalb angenommen werden, weil an den Blutkörperchen keine Veränderungen (Lücken, Vakuolen) wahrgenommen werden können.

Für die Beurteilung jener kleinsten Gebilde müssen auch trotz einiger Aehnlichkeiten jene Drepanidien ausgeschieden werden, welche Dutton, Todd und Tobey in den Annals of Trop. med. and Parasit. Vol. 1. 1907/08 bei Schlangen gefunden und in genanntem Werk auf Tafel XXV, Fig. 53 abgebildet haben; diese Gebilde haben eine Länge von 10 μ, eine Breite von 1 μ; es soll sich bei ihnen möglicherweise um leere Kapseln von Drepanidien handeln. Auf Tafel XXVIII, Fig. 72, 73, 74 bilden die gleichen Autoren noch sogenannte schlanke Formen von Drepanidien ab; einige von ihnen haben ebenfalls eine gewisse Aehnlichkeit mit den von mir beschriebenen, unterscheiden sich aber von ihnen durch ihre scharfgefärbten Chromatinkörnchen. Da nun in den mir vorliegenden Präparaten von Hühnerblut alle Kerne der roten Blutkörperchen scharf gefärbt sind, an diesen auch keinerlei Spuren zu bemerken sind, welche etwa darauf hindeuten könnten, daß Parasiten aus ihnen ausgewandert sind, so ist es nicht wahrscheinlich, daß wir in den kleinen Stäbchen aus dem Hühnerblut Formen vor uns haben, die in den Entwickelungskreis eines endoglobulären Parasiten gehören. Aus diesem Grunde sind auch die von Oberarzt Dr. Weck im Archiv f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1908 beschriebenen und angeblich an gestreckte Spirochäten erinnernden, bei Rana esculenta aus Deutsch-Ostafrika gefundenen Blutparasiten hier auszuschließen.

Gleiches ist anzunehmen bezüglich jener in Länge und Struktur ähnlichen, in Annals of Trop. med. and Parasit. Liverpool. Vol. 1 auf Tafel XXXI abgebildeten Spirochaete Jonesii. Diese stammt aus

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einem Fisch und ist sehr schmal, so daß auch hier gewichtige Unterschiede vorliegen.

Gewisse Aehnlichkeiten der äußeren Erscheinung mit den fusiformen Bakterien fordern, auch diese in den Kreis unserer vergleichenden Betrachtungen einzubeziehen.

Es sind hier zu nennen jene 3—12 μ langen Bakterien und die Pilzfäden, welche G. Keysselitz und M. Meyer beim Ulcus tropicum erwähnen, und des weiteren die von M. Meyer in „Beiträge zur Morphologie der Spirochäten" (Sp. Duttoni) Tafel I, Fig. 21 (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg.) beschriebenen Spirochäten, die nach seiner Meinung möglicherweise Entwickelungsformen sein können.

Auch der spindelförmigen Mikroorganismen resp. Bacillen, welche bei Vincentischer Angina, Caries der Zähne etc. gefunden werden und nach Prof. Babes noch nicht mit Sicherheit den Bakterien zugerechnet werden können, sei hier Erwähnung getan.

Die eingehenden Vergleichungen ergaben aber, daß jene Aehnlichkeiten doch nur äußerliche, und daß erhebliche Unterschiede, so in der Größe, vorhanden sind. Hierzu tritt noch besonders der Umstand, daß alle fusiformen Bacillen mehr oder weniger starre Gebilde sind, während unsere kleinsten, würmchenartigen Gebilde sehr flexibel sind.

Daraus muß also der Schluß gezogen werden, daß unsere in dem Haushuhn gefundenen kleinsten Formen mit bisher gesehenen und beschriebenen Gebilden nicht identifiziert werden können.

Zur Abgabe eines bestimmten Urteils über Art und Herkunft dieser würmchen- oder stäbchenartigen Gebilde reicht mir jedoch mein Material nicht aus, und namentlich fehlt dafür die frische Untersuchung. Jedenfalls ist aber die Möglichkeit, daß diese Gebilde den Mikrofilarien nahestehen, nicht eo ipso abzuweisen, zumal wenn hierbei die oben bei dem Typus I der Filarien erwähnten heller durchleuchtenden dünnen Schläuche noch in Betracht gezogen werden, die auf Abbildung I deutlich zu erkennen sind. Auffällig ist jedenfalls auch noch der Umstand, daß die Stäbchen von mir nur im peripheren, dagegen nicht im Leberblut zu finden waren, das doch von einem hochgradig erkrankten Organ stammte.

Literatur.

Fülleborn und Rodenwaldt, Filarien. (Realenzyklopädie d. gesamt. Heilkunde. 4. Aufl.)

Annals of Trop. med. and Parasit. Vol. 1. 1907/08.

Second Report of the Wellcome Research Laboratories at the Gordon memorial College Khartoum 1906. Report of travelling pathologist Neave. p. 199. Filariae suis. Tafel XIX.

Dutton, Todd and Toby, Annales of Trop. med. and Parasit. Vol. 1. 1907/08. Tafel XXV, Fig 53 u. Tafel XXVIII.

Breinl and Kingshorn, An experimental study of the parasite of the African Tick fever (Spirochaeta Duttoni). (Memoir XXX of the Liverpool School of Trop. med. 1906.)

Keysselitz, G. und Mayer, M., Ulcus tropic. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1909.)

Mayer, M., Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1908. Beiheft 1. Fig. 21.

Weck, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1908. p. 506.

Hartmann und Mühlens, Untersuchungen über Bau und Entwickelung der Zahnspirochäten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 55. 1906.)

v. Prowazek und Keysselitz, Morphologische und entwickelungsgeschichtliche Untersuchungen über Hühnerspirochäten. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 23. 1906; s. auch Tafel I, Fig. 6a u. 6b.)

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Levaditi et Manouélian, Recherches sur l'infection provoquée par le spirille de la Tick-fever. Pl. VIII. (Annal. de l'Instit. Pasteur. T. 21. 1907.)
Doflein, Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena 1909.
Babes, Spindelförmige Bacillen. (Kolle u. Wassermanns Handbuch d. pathog. Mikroorganismen. Jena 1906. p. 271.)

Tafelerklärung.

Fig. I. Große Nematode aus dem Blute eines Haushuhnes. Gezeichnet mit Zeiss homog. Immersion 2 mm, Okul. II. Färbung mit Hämatoxylin.

Fig. II. Mikrofilarie aus demselben Blute. Dieselbe Vergrößerung und Färbung.

Fig. III. Kleine würmchenähnliche Gebilde aus dem gleichen Präparat. Dieselbe Vergrößerung und Färbung.

Nachdruck verboten.

La coagglutination des globules rouges par les mélanges des anticorps et des antigènes albumineux.

[Institut Pasteur de Bruxelles.]

Par les Drs. **J. Bordet** et **O. Gengou.**

Nous nous proposons de signaler brièvement un phénomène assez remarquable qui se produit dans des conditions expérimentales fréquemment réalisées au cours des recherches relatives à l'immunité, et qui, ne fût-ce que pour cette raison, mérite d'attirer l'attention. Ce phénomène, très apparent, trahit d'une manière évidente des réactions entre sérums qui, sans son intervention, pourraient ne présenter rien de visible. Voici le fait dont il s'agit:

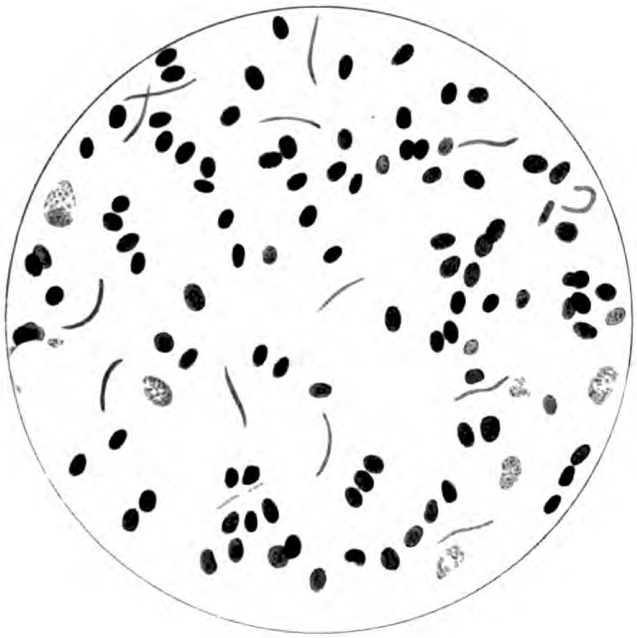
Versons dans un tube à réactif un peu de sang défibriné de cobaye neuf. Ajoutons y de petites quantités, d'abord de sérum (préalablement chauffé à 56°) de cobaye immunisé contre le sang de lapin, puis de sérum de lapin normal (également chauffé à 56°). Par exemple, dans un centimètre cube de sang de cobaye, versons 0,05 c. c. de sérum de cobaye antilapin et 0,1 c. c. de sérum de lapin. Immédiatement après, agitons le tube en l'inclinant, puis, le tenant verticalement sans le remuer, observons la descente du liquide, qui grâce à l'agitation, a mouillé la paroi du tube jusqu'à une certaine hauteur. Nous constatons que les globules rouges, fur et à mesure qu'ils descendent le long de la surface du verre, s'agglutinent en gros paquets entre lesquels le liquide s'écoule, de telle sorte que cette surface, au bout de quelques instants, se montre tachetée de flocons rouges. Ce phénomène d'agglomération devient bientôt visible d'ailleurs, au fond du tube, dans la masse du mélange: les globules se sédimentent en effet avec beaucoup de rapidité. Par son action propre, le sérum de lapin est incapable d'agglutiner une dose aussi considérable de sang de cobaye. Si on le fait intervenir seul, si à un centimètre cube de sang de cobaye, on se borne à ajouter 0,1 c. c. de sérum de lapin, on n'observe aucun phénomène. D'autre part, le sérum de cobaye antilapin est, comme on doit s'y attendre, sans action sur les globules de cobaye. Il faut, pour que le phénomène d'agglomération se produise, le concours des deux sérums. Remarquons aussi que le phénomène se produit très vite, presque instantanément.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1

2

3



J. Helbig del.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

L'explication qui dans l'état actuel de nos connaissances, se présente immédiatement à l'esprit, c'est que les albuminoïdes du sérum de lapin, réagissant avec le sérum spécifique antilapin, forment avec celui-ci un complexe doué de propriétés particulières au point de vue de l'adhésion moléculaire, capable notamment d'être adsorbé par les globules de cobaye, et de provoquer ainsi leur agglutination. C'est d'ailleurs bien cette interprétation qu'il convient d'adopter, ainsi que le lecteur pourra s'en convaincre en parcourant la série de nos expériences. Ce qui semble réellement se passer, ce n'est pas une agglutination mutuelle des globules rouges, c'est un entraînement, dans une agglutination commune, des globules rouges, par le produit anticorps-antigène de la réaction entre les deux sérums. Il s'agit donc, à proprement parler, d'une «coagglutination» des globules rouges.

Pour produire dans ces conditions le phénomène avec beaucoup d'intensité, il suffit de doses remarquablement minimes de sérum de lapin neuf et de sérum de cobaye antilapin, lorsque ce dernier est bien actif[1]). Par exemple, à un centimètre cube de sang défibriné de cobaye, ajoutons 0,05 c.c. de sérum de cobaye antilapin (chauffé au préalable à 56°) additionné de quatre volumes de solution physiologique de NaCl, ce qui correspond donc à une dose de 0,01 c.c. de sérum pur. Versons ensuite dans le tube 0,05 c.c. de sérum de lapin (chauffé au préalable à 56°), agitons, inclinons le tube puis redressons le: les globules qui ruissellent sur le verre s'agglutinent en paquets; bientôt on voit une sédimentation des amas de globules s'opérer au fond du tube.

On peut, au lieu d'employer du sang défibriné, se servir de sang qui n'a pas subi la coagulation, qui a été additionné, au sortir de l'artère, de 1 ‰ d'oxalate sodique, et qu'on additionne d'un peu de sérum de cobaye antilapin et de sérum de lapin également oxalatés à 1 ‰. La coagglutination s'opère, un peu plus énergique même que si l'on se sert de sang défibriné.

D'autre part, au lieu de sang défibriné, on peut faire intervenir du sang lavé à la solution physiologique de NaCl, puis ramené au volume primitif, en d'autres termes ne contenant plus de sérum. Les résultats sont les mêmes. Faisons remarquer immédiatement que (les sérums de cobaye antilapin et de lapin dont on se sert ayant été chauffés tous d'eux à 56°) dans cette expérience, on observe la coagglutination des globules en l'absence d'alexine (complément); celle-ci n'est nullement nécessaire à l'apparition du phénomène[2]).

Ainsi que nous venons de le dire, on doit présumer que la cause du phénomène réside dans l'action spécifique, sur le sérum de lapin, du sérum de cobaye antilapin. La coagglutination ne doit donc pas se produire si dans l'expérience, on remplace le sérum de lapin par le sérum d'une autre espèce animale. C'est ce que l'expérience confirme: Lorsqu'à un mélange de 1 c.c. de sang défibriné de cobaye et de 0,1 c.c. de sérum de cobaye antilapin, on ajoute 0,15 c.c. de sérum de lapin, on observe une coagglutination extrêmement énergique. Lorsqu'on constitue des mélanges semblables, sauf qu'au lieu de sérum de lapin on ajoute 0,15 c.c. de sérum d'homme, ou de rat, ou de poule, ou de

1) Les cobayes ont reçu 4 injections de 3—5 c.c. de sang de lapin et ont été saignés 10—12 jours après la dernière injection.

2) Sauf indication contraire, les sérums employés dans les expériences qui suivent ont été toujours chauffés au préalable à 56°.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

cheval, on ne constate aucun phénomène. Cependant, dans ces conditions, le sérum de chèvre donne une coagglutination très légère, qui ne se produit pas en l'absence de sérum de cobaye antilapin. Il semble donc, en infraction à la loi de la spécificité, que celui-ci agit, à un faible degré, il est vrai, sur le sérum de chèvre.

On doit prévoir que le phénomène de coagglutination, résultant de la réaction entre deux sérums, se produira avec les mêmes caractères si l'on remplace le sérum de cobaye antilapin par un autre immunsérum à condition bien entendu d'employer l'antigène approprié, si l'on se sert par exemple de sérum de cobaye antichèvre et de sérum de chèvre. A 1,5 c. c. de sang de cobaye, ajoutons 0,05 c. c. de sérum de cobaye antichèvre, puis 0,1 c. c. de sérum de chèvre. Une forte coagglutination se produit; bien entendu, les globules ne sont nullement modifiés dans des mélanges témoins où le sang de cobaye est en contact avec l'un seulement des deux sérums.

Dans ces expériences où l'on opère avec du sang de cobaye, il n'est nullement nécessaire que l'immunsérum provienne de la même espèce animale. On peut, dans l'essai précédent, remplacer le sérum de cobaye antichèvre par du sérum de lapin antichèvre, la coagglutination par addition de sérum de chèvre se produit avec la même netteté. On obtient encore des résultats semblables en employant le sérum de lapin antibœuf et le sérum de bœuf[1]).

Chose remarquable, l'aptitude des globules de cobaye à être coagglutinés sous l'influence combinée de l'immunsérum et du sérum antigène est très supérieure à celle que manifestent, dans les mêmes conditions, les globules rouges d'autres espèces animales. Comparons par exemple, à ce point de vue, le sang du cobaye à celui du lapin. A un centimètre cube de sang défibriné, d'une part, de cobaye, de l'autre, de lapin, ajoutons 0,15 c. c. de sérum de lapin antichèvre et 0,2 c. c. de sérum de chèvre. Les deux sangs présentent la coagglutination, mais celui de cobaye la manifeste d'une manière beaucoup plus intense.

Nous avons étendu cette comparaison au sang d'autres espèces animales, homme, rat, poule, pigeon, chèvre, cheval, en employant soit le sérum antichèvre et le sérum de chèvre, soit le sérum antilapin et le sérum de lapin. Aucun de ces sangs ne réagit aussi nettement que le sang de cobaye; la plupart ne manifestent qu'une coagglutination très légère ou même nulle. L'aptitude à la coagglutination est donc une propriété presque spéciale au cobaye.

Un fait qu'il importe de signaler, c'est l'existence, pour la production du phénomène de coagglutination des globules, de proportions optimales entre le sérum antigène et l'immunsérum. L'expérience montre en effet que pour une quantité donnée de sérum antigène, la dose d'immunsérum ne doit pas être trop considérable. Un excès d'immunsérum, surtout lorsqu'il est fort actif, exerce une influence empêchante, peut même mettre entièrement obstacle à l'apparition de la coagglutination. Si l'on exagère la dose d'immunserum, il faut, pour que celle-ci se manifeste,

1) Par contre, nous n'avons guère obtenu de coagglutination du sang de cobaye en faisant intervenir du sérum de cobaye anticheval et du sérum de cheval, ou bien du sérum de lapin antihomme et du sérum d'homme. Mais nous nous proposons de vérifier ces résultats presque négatifs en utilisant de nouveaux échantillons de ces immunsérums. Peut-être ceux dont nous nous sommes servis n'étaient-ils pas assez puissants.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

exagérer aussi, corrélativement, la dose de sérum antigène. En voici un exemple: On établit tout d'abord (mélange-témoin) que si à 1,5 c. c. de sang défibriné de cobaye, on ajoute 0,5 c. c. de sérum de chèvre (préalablement chauffé à 56°) on n'observe pas de modification des globules: à cette dose, le sérum de chèvre n'agglutine pas visiblement. Cela posé, on verse dans trois tubes A, B, C, 1,5 c. c. de sang de cobaye. On ajoute de l'immunsérum de cobaye antichèvre, à dose de 0,05 c. c. dans le tube A, à dose de 0,25 c. c. dans les tubes B et C. On introduit ensuite, dans les tubes A et B, 0,1 c. c. de sérum de chèvre, et dans le tube C, 0,5 c. c. de ce même sérum. La coagglutination apparaît très forte en C, forte en A, elle ne se manifeste pas en B. Dans ce dernier mélange, l'absence du phénomène est due à ce que la dose d'immunsérum est trop forte par rapport à la quantité de sérum de chèvre. Pour obtenir la coagglutination, il faut, ou bien augmenter la dose de sérum de chèvre (C) ou bien diminuer celle d'immunsérum (A).

Voici une autre expérience, qui donne un résultat tout à fait analogue: Quatre tubes A, B, C, D contiennent 1,5 c. c. de sang de cobaye. On verse dans A et B, 0,05 c. c., dans C et D, 0,25 c. c. de sérum de cobaye antilapin. On introduit ensuite, dans B et C, 0,075 c. c., dans A et D, 0,4 c. c. de sérum de lapin. La coagglutination ne se produit pas dans C, elle est très forte dans A, B et D. On voit donc que si l'excès d'immunsérum est nuisible, il n'en est pas de même d'un excès de sérum antigène (sérum de lapin). Si l'on prépare un mélange renfermant comme A un excès de sérum de lapin (0,4 c. c.) et une dose plus minime encore de sérum de cobaye antilapin (0,025 c. c.), on obtient encore une coagglutination énergique.

Le lecteur aura remarqué sans doute que pour provoquer la coagglutination, nous introduisons dans le sang défibriné, d'abord l'immunsérum, puis le sérum antigène. On peut se demander si l'on n'obtiendrait par les mêmes résultats en mélangeant tout d'abord l'immunsérum et le sérum antigène, l'addition de sang étant faite ultérieurement. Or, de semblables expériences montrent qu'un contact préalable de l'immunsérum avec le sérum antigène a pour effet, s'il a été suffisamment prolongé, de diminuer beaucoup l'intensité de la coagglutination. Versons dans deux tubes A et B, 0,05 c. c. de sérum de cobaye antilapin, et ajoutons au tube A, 0,1 c. c. de sérum de lapin. Une heure plus tard, introduisons dans les deux tubes 0,5 c. c. de sang défibriné de cobaye, et ajoutons au mélange B, 0,1 c. c. de sérum de lapin. La coagglutination, forte dans B, ne se produit pas en A, où les deux sérums se sont trouvés en contact avant l'addition de sang. Des expériences analogues, réalisées en faisant agir sur le sang de cobaye, d'autres sérums (sérum de cobaye antichèvre et sérum de chèvre) donnent lieu aux mêmes constatations.

Le rôle défavorable du contact est particulièrement évident lorsque la dose d'immunsérum est assez forte par rapport à celle du sérum antigène. Or, cette condition, on le sait, est propice à l'apparition du précipité résultant de l'influence des précipitines sur les antigènes qu'elles impressionnent. On peut donc prévoir que lorsque le complexe, anticorps-antigène a eu le temps de se condenser sous forme de précipité visible, il ne manifeste plus d'activité coagglutinante. C'est ce que l'expérience vérifie: Lorsqu'on mélange 0,3 c. c. de sérum de cobaye antilapin à 0,05 c. c. de sérum de lapin, un trouble net apparaît bientôt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Si l'on ajoute 0,6 c. c. de sang de cobaye, on n'observe aucune coagglutination. Au surplus, nous avons fait remarquer antérieurement que, contrairement à ce qu'on observe en général pour la précipitation, la coagglutination est empêchée ou diminuée lorsque l'immunsérum est trop abondant relativement au sérum antigène.

On doit donc admettre que pour englober aisément les globules rouges et produire ainsi leur coagglutination, le complexe anticorps-antigène doit se trouver à l'état de dissémination dans le liquide, sans s'être rassemblé en particules visibles. Pour que le liquide garde longtemps son homogénéité et sa limpidité sans que le complexe se sépare sous forme de flocons, le sérum antigène doit s'y trouver en quantité assez forte.

Si cette condition n'est pas convenablement réalisée, si la dose de sérum antigène est un peu faible par rapport à celle d'immunsérum, l'énergie coagglutinante, manifeste dans les premiers moments qui suivent la préparation du mélange, décroîtra beaucoup ultérieurement. Et si dès le début de l'expérience, on a ajouté des globules rouges, ceux-ci s'agglutinent tout d'abord, mais se désagglutinent au bout d'un certain temps, ou tout au moins refusent désormais de reconstituer des amas après agitation du mélange. Au contraire, le phénomène se reproduit pour ainsi dire indéfiniment lorsqu'à divers intervalles on agite un mélange renfermant une quantité plus forte de sérum antigène. Voici une expérience de ce genre: Dans deux tubes A et B on verse 0,05 c. c. de sérum de cobaye antilapin et 1,5 c. c. de sang de cobaye. On ajoute du sérum de lapin, à dose de 0,075 c. c. dans le tube A, à dose de 0,4 c. c. dans le tube B. Une forte coagglutination apparaît dans les deux tubes. Quelques heures plus tard, agitons les pour émulsionner de nouveau les globules; nous observons ensuite que la coagglutination ne reparaît pas dans A, qu'elle se reproduit au contraire fort bien dans B. Le lendemain, ce dernier mélange est susceptible encore de manifester la coagglutination. Il suffit d'ailleurs, pour qu'elle reparaisse dans le mélange A, d'y ajouter un peu de sérum de lapin. Citons encore une expérience: Deux tubes A et B contiennent 1,5 c. c. de sang de cobaye. On introduit dans A, 0,05 c. c. et dans B, 0,025 c. c. de sérum de cobaye antilapin. On verse ensuite, dans les deux tubes, la même dose (0,075 c. c.) de sérum de lapin. On observe dans les deux mélanges une forte coagglutination. Le lendemain, après agitation, la coagglutination ne reparaît plus dans A, se manifeste encore fort bien dans B. On le conçoit: la quantité absolue de sérum antigène est la même dans les deux mélanges, mais la dose relative, par rapport à celle de l'immunsérum, est plus forte dans le mélange B.

La coagglutination impliquant, par définition même, un accolement mutuel des globules et du complexe anticorps-antigène, on doit prévoir que celui-ci, lorsque le phénomène se produit, est enlevé au liquide ambiant. En d'autres termes, un mélange d'immunsérum et de sérum antigène qui s'est déjà trouvé en contact avec des globules rouges de cobaye et les a coagglutinés, ne doit plus manifester d'énergie coagglutinante (ou tout au moins ne doit plus manifester qu'une énergie beaucoup moindre) à l'égard de nouveaux globules. Pour démontrer qu'il en est bien ainsi, on prépare dans deux tubes A et B deux mélanges identiques de sérum de cobaye antilapin (0,05 c. c.) et de sérum de lapin (0,2 c. c.). On ajoute au tube A, 0,6 c. c. de sang lavé de cobaye, au tube B, même

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dose de solution physiologique de NaCl; la coagglutination s'opère dans le mélange A, que l'on centrifuge et dont on décante le liquide surnageant. On mélange alors, d'une part 0,25 c. c. de ce liquide, d'autre part 0,25 c. c. du mélange B, avec 0,1 c. c. de sang lavé de cobaye. On constate ainsi que le liquide surnageant a perdu son activité coagglutinante.

La coagglutination exige, nous l'avons vu, la présence simultanée de l'immunsérum et du sérum antigène. Toutefois, les constituants de ce dernier sérum qui interviennent dans le phénomène ne peuvent-ils, sans la coopération de l'immunsérum, se fixer dans une certaine mesure sur les globules rouges? Par exemple, le sérum de chèvre coagglutine les globules de cobaye en présence de sérum de cobaye antichèvre. Mais les coagglutinera-t-il encore aussi fortement, dans ces conditions, si au préalable ce sérum de chèvre s'est trouvé en contact avec une quantité suffisante de globules de cobaye? Les expériences instituées pour répondre à cette question montrent que deux contacts successifs avec volume égal de sang lavé de cobaye n'enlèvent que très partiellement, au sérum de chèvre, le pouvoir de constituer avec l'immunsérum, un mélange coagglutinant pour de nouveaux globules de cobaye. On doit donc admettre, semble-t-il, que les matières actives du sérum de chèvre ne sont pas, par elles-mêmes, dépourvues de toute affinité pour les globules, mais que cette affinité ne devient réellement intense que sous l'influence du sérum anti-chèvre.

On peut se demander d'autre part si l'activité coagglutinante de l'immunsérum ne diminue pas par le contact avec les globules que ce sérum impressionne spécifiquement. L'expérience répond négativement. Si nous maintenons pendant quatre heures du sérum de cobaye antilapin (qui bien entendu, comme dans toutes les expériences que nous citons ici, a été chauffé à 56°) en contact avec deux volumes de sang lavé de lapin, nous trouvons qu'après centrifugation et décantation, ce sérum se montre tout aussi apte que s'il n'avait pas subi ce contact, à constituer, avec le sérum de lapin, un mélange coagglutinant pour les globules de cobaye. Les matières qui dans l'immunsérum sont responsables de la coagglutination ne s'unissent donc pas aux globules rouges du sang antigène; nous avons vu plus haut qu'elles entrent en réaction avec la partie liquide de ce sang, avec les principes du sérum.

Ajoutons encore, à ces divers renseignements, que les propriétés coagglutinantes du sérum antigène (nous avons opéré à ce propos sur le sérum de chèvre) s'affaiblissent par le chauffage à 70°, disparaissent par le chauffage à 77°[1]), que, d'autre part, le phénomène de la coagglutination ne semble nullement s'accompagner d'une absorption notable d'alexine (complement), et que, ainsi qu'il faut s'y attendre, le sang de cobayes en voie d'immunisation contre le sang de lapin est susceptible, à une certaine période tout au moins (lorsqu'il n'est pas encore très riche en anticorps) de se laisser coagglutiner par l'addition d'un peu de sérum de lapin.

Faisons remarquer enfin que la propriété coagglutinante de l'immunsérum se transmet dans l'immunité passive. Ainsi, un cobaye neuf auquel on injecte du sérum de cobaye antilapin (1 c. c. par exemple)

1) On chauffe le sérum de chèvre après l'avoir additionné de volume égal de solution physiologique de NaCl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:23 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fournit lui-même un sérum capable de constituer, avec le sérum de lapin, un mélange coagglutinant pour le sang de cobaye. Naturellement, l'énergie de ce sérum d'immunité passive est relativement minime; elle se montre, si on la compare à celle de l'immunsérum injecté, diminuée proportionnellement à la dilution que cet immunsérum a subie dans les humeurs de l'animal injecté. Ces faits sont en conformité avec les lois de l'immunité passive. On prévoit enfin que le sang d'un cobaye immunisé passivement par l'injection d'un peu de sérum de cobaye antilapin pourra se coagglutiner par la simple addition de sérum de lapin; l'expérience montre qu'il en est bien ainsi.

Le phénomène de la coagglutination donne lieu à une remarque d'ordre général, qu'il importe de ne jamais perdre de vue dans les recherches sur l'immunité. Sur les réactions initiales et essentielles qui s'établissent entre divers sérums, peuvent se greffer des réactions secondaires. Les anticorps du sérum de cobaye antilapin, par exemple, n'agissent sûrement pas sur les globules de cobaye [1]). Et cependant les globules sont entraînés par le produit de la réaction de ces anticorps sur le sérum de lapin. Cette participation des globules est facilement décelable parce que les globules sont des éléments volumineux, mais à priori rien ne s'oppose à ce que des particules beaucoup plus petites et plus difficilement visibles se comportent de la même façon, et finissent ainsi par entrer dans la constitution de certains agrégats sans avoir aucunement pris l'initiative de la réaction. Peut-être est-ce pour une raison de ce genre que les précipités naissant de la réaction d'un immunsérum avec le sérum antigène renferment, ainsi que l'ont constaté divers observateurs, notamment Pick, Moll, Welsh et Chapmann, etc., non seulement des matériaux propres au sérum précipitable, mais aussi des principes provenant du sérum précipitant.

* * *

Le lecteur aura vraisemblablement songé à la possibilité de l'intervention de la coagglutination, ci-dessus décrite, dans les phénomènes d'anaphylaxie. En présence d'un peu d'immunsérum, l'introduction dans le sang d'une certaine quantité d'antigène peut y déterminer des modifications très apparentes et qui se produisent très rapidement. Or, la rencontre dans l'organisme de l'immunsérum et de l'antigène est précisément la condition même du choc anaphylactique. De plus, comme il s'agit d'un phénomène d'agglutination, on peut songer assez légitimement au rôle que des paquets de globules agglomérés pourraient jouer dans la production des troubles circulatoires et respiratoires si manifestes dans l'anaphylaxie. Il a y d'autre part coïncidence entre la sensibilité du cobaye à l'anaphylaxie et l'aptitude de ses globules à la coagglutination.

Il s'est trouvé d'ailleurs que c'est justement en étudiant l'anaphylaxie que nous avons observé tout d'abord, il a y assez longtemps déjà, la coagglutination des globules. Voici quelle avait été notre première expérience: Nous desirions étudier l'influence du sérum toxique (sérum antigène) sur le sang d'un animal anaphylactisé (passivement). Un cobaye pesant 300 g reçoit sous la peau 1 c. c. de sérum de cobaye antilapin bien actif.

1) Ajoutons à ce propos que la coagglutination du sang de cobaye (par l'action combinée de l'immunsérum et du sérum de lapin) peut s'opérer même si l'immunsérum et les globules proviennent du même animal.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Le lendemain on lui extrait 4 c. c. de sang que l'on mélange, au sortir de l'artère, avec 0,4 c. c. de solution d'oxalate de soude, qui empêche la coagulation. On pratique la même opération sur un cobaye neuf. On additionne ensuite les deux sangs obtenus de 0,2 c. c. de sérum de lapin (chauffé à 56°). Très rapidement le sang du premier cobaye manifeste une intense coagglutination et une sédimentation rapide des globules; le sang du cobaye normal ne présente aucune modification. Ajoutons en passant que l'addition ultérieure à ces 2 échantillons de sang de chlorure calcique à dose qui neutralise l'oxalate provoque la coagulation, laquelle s'opère aussi rapidement dans l'un que dans l'autre.

C'est à la suite de cette expérience que nous avons observé la coagglutination in vitro, par le simple mélange du sang défibriné de cobaye normal, d'immunsérum et de sérum de lapin.

La coagglutination des globules rouges est-elle l'une des causes déterminantes des accidents anaphylactiques? Il semble certain qu'elle peut s'opérer in vivo, dans le sang circulant lui-même, chez des cobayes qui succombent aux accidents anaphylactiques. Par exemple, un cobaye reçoit dans la carotide 1 c. c. de sérum de cobaye antilapin. Le surlendemain, on lui injecte, dans la carotide, 0,5 c. c. de sérum de lapin. L'animal meurt en quelques minutes, ayant présenté les symptomes typiques de l'anaphylaxie; on constate que le sang retiré du cœur présente une coagglutination nette.

Mais nous devons faire remarquer que la mort par anaphylaxie peut survenir aussi sans qu'on puisse dénoter une coagglutination perceptible; c'est ce qui arrive lorsque la dose de sérum de lapin (injectée dans l'artère à des cobayes préparés par une injection de sérum de cobaye antilapin) est relativement faible: On sait que la coagglutination exige un quantité assez notable de sérum antigène.

Nous devons signaler aussi qu'une coagglutination nette peut s'observer dans le sang que l'on extraît de cobayes soumis peu de temps auparavant à deux injections intraveineuses, pratiquées immédiatement l'une après l'autre, de sérum de cobaye antilapin et de sérum de lapin. Et cependant, dans ces conditions, on ne constate pas d'accidents. On le sait, Otto, Doerr et Russ, d'autres auteurs encore, ont constaté que l'hypersensibilité passive ne s'établit qu'au bout d'un temps notable après l'injection intraveineuse d'immunsérum. Or, un cobaye qu'on injecte dans le jugulaire de 1 c. c. de sérum de cobaye antilapin, puis, quelques instants après, de 2 c. c. de sérum de lapin, reste indemne; néanmoins, un peu de sang, recueilli à la carotide, montre une coagglutination très évidente des globules rouges.

L'hypersensibilité passive, nulle immédiatement après l'injection intravasculaire de l'immunsérum, s'établit progressivement. Or, durant cette période, on ne constate pas que l'aptitude du sang à se coagglutiner par addition du sérum antigène s'accroisse parallèlement. Si l'on retire un peu de sang tout de suite après l'injection d'immunsérum, et qu'on le compare à une nouvelle dose de sang que l'on extraît le lendemain, on trouve que les deux échantillons se comportent de même en présence d'un peu de sérum de lapin; des mensurations précises établissent que la coagglutinabilité du sang ne s'est aucunement accentuée pendant que l'hypersensibilité se développait. Au surplus, les expériences réalisées in vitro montrent que la coagglutination n'est pas plus intense si le sang de cobaye normal (oxalaté ou défibriné) a été maintenu longtemps au

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

contact de l'immunsérum que si ce mélange est effectué immédiatement avant l'addition du sérum antigène.

Ces renseignements, auxquels nous nous bornerons pour le moment, montrent que la question d'une participation éventuelle de la coagglutination dans les troubles anaphylactiques doit être soumis à des recherches complémentaires.

Conclusions.

1° Nous désignons sous le nom de «coagglutination» l'entraînement des globules rouges par le produit de la réaction entre un immunsérum et le sérum antigène.

2° Ce phénomène est déterminé par l'action combinée des deux sérums qui, isolément, n'entreraient pas en réaction avec les globules rouges.

3° Il existe entre l'immunsérum et le sérum antigène, une proportion de doses optimale pour l'apparition du phénomène. Notamment, un excès d'immunsérum est nuisible.

4° L'apparition du phénomène n'exige nullement qu'à la faveur de la réaction entre l'immunsérum et le sérum antigène, un précipité visible se soit constitué dans le liquide. Les relations de dose entre les deux sérums, les plus propices à la coagglutination, ne sont pas celles qui se prêtent le mieux à la production de précipité. Par lui-même, un précipité constitué est inactif. Au surplus, la coagglutination peut s'opérer dès que les deux sérums se rencontrent, tandis que la production d'un précipité visible exige un temps plus prolongé. Enfin, le contact prolongé entre l'immunsérum et le sérum antigène, avant l'addition des globules rouges, agit défavorablement sur l'apparition de la coagglutination.

5° Les globules de cobaye sont beaucoup plus aptes à manifester la coagglutination que ne le sont les globules d'autres espèces animales.

6° Le complexe anticorps-antigène, qui coagglutine les globules, est soustrait par eux du liquide ambiant.

7° Un contact préalable avec les globules qu'il impressionne spécifiquement n'enlève pas à l'immunsérum la propriété de constituer ensuite, avec le sérum antigène, un mélange coagglutinant pour les globules de cobaye.

8° Les propriétés, au point de vue de la coagglutination, de l'immunsérum injecté à des animaux neufs se transmettent au sérum de ces derniers; il semble établi que la coagglutination peut même s'opérer in vivo dans le sang de tels animaux par l'injection consécutive du sérum antigène.

9° La question d'une participation éventuelle de la coagglutination dans l'anaphylaxie doit être soumise à de nouvelles recherches.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Studien über Desinfektion mit besonderem Hinblick auf die Methode von Krönig und Paul.

[Aus dem Statens Seruminstitut, Kopenhagen (Dir.: Dr. Th. Madsen).]

Von

G. C. Reymann, und **Max Nyman,**
Assistenten am Institute. Helsingfors.

Die Methode von Krönig und Paul bietet in vielen Beziehungen größerer Vorteile dar, als die übrigen Methoden für quantitative Desinfektionsuntersuchung, und zwar besonders in bezug auf die Aufbewahrungsweise der Testorganismen, indem ein annähernd gleichmäßiger Ausgangspunkt für Versuche, welche zu verschiedenen Zeitpunkten vorgenommen worden sind, durch diese geschaffen wird, und ferner dadurch, daß das Desinfektionsmittel leicht wieder beseitigt werden kann. Die Methode bedeutet einen großen Fortschritt und hat in den seit ihrem Erscheinen verstrichenen Jahren berechtigte Anerkennung gewonnen; sie ist unter anderen im hiesigen Institute eingehend von Madsen und Nyman[1]) untersucht worden.

Wer sich mit quantitativen Desinfektionsuntersuchungen beschäftigt hat, wird wissen, wie schwierig es oft ist, durch die Versuche eine klare Antwort auf die gestellten Fragen zu erhalten, und unsere ca. 1 Jahr hindurch ausgeführten Hunderte von Versuchen haben uns mit hinlänglicher Deutlichkeit die unvermeidlichen Fehlerquellen, welcher dieser, wie den meisten umständlichen Methoden anhaften, gezeigt. Sie ist ausführlich in der Abhandlung von Krönig und Paul[2]) beschrieben worden, verlangt eine große Apparatur, und sicher wäre es für ihre Verwertbarkeit zuträglich, falls diese eingeschränkt werden könnte, weshalb wir auf die Einzelheiten der Methode näher eingegangen sind und deren einzelne Prozesse einer Untersuchung unterworfen haben, um zu sehen, ob etwaige Vereinfachungen möglich seien. Wir haben übrigens auch einzelne andere Verhältnisse, die teils diese Methode, teils quantitative Desinfektionsuntersuchungen im allgemeinen angehen, untersucht, um sie schließlich für einen Vergleich zwischen den Wirkungen von Sublimat und Silbernitrat zu verwenden. Die folgende Darstellung zerfällt hiernach in die untenstehenden Abschnitte:

A. Allgemeine Verhältnisse, welche die Methode, unsere Versuche und quantitative Desinfektionsuntersuchungen im allgemeinen angehen,
B. Untersuchungen über die verschiedenen Prozeduren der Methode,
C. Vergleich zwischen Sublimat und Silbernitrat.

---

1) Madsen und Nyman, deren Arbeit in der Zeitschr. f. Hyg. Bd. 57 erschienen ist, haben die Technik der Methode modifiziert und unter anderen Schüttelung in flachen, viereckigen Flaschen mittels Schüttelmaschine eingeführt. Ihre Modifikationen sind in dieser Arbeit beibehalten worden.

2) Die chemische Grundlage der Lehre von der Desinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

A. Allgemeine Verhältnisse.

Die Ausführung der Methode geht nach dem untenstehenden Schema vor sich, auf dessen Zahlen wir der Orientierung halber später verweisen wollen.

Schema.

1) Behandlung mit dem Desinfektionsmittel,
2) Erste Auswaschung (Wasser),
3) Behandlung mit dem Neutralisationsmittel,
4) Zweite Auswaschung (Wasser),
5) Ueberführen in die Schüttelflasche (viereckige Flaschen),
6) Verteilung auf Platten, eventuell nach Verdünnung.

Für die Versuche wurden ausschließlich Sporen von Bacillus anthracis verwendet, und da es der Infektionsgefahr wegen wünschenswert ist, mit wenig virulenten Bakterien arbeiten zu können, und es übrigens nicht bewiesen worden ist, daß Virulenz und Resistenz in einem bestimmten Verhältnisse zueinander stehen, so haben wir uns dazu entschlossen, die Virulenz nicht durch Impfen von Tier zu Tier zu steigern, sondern gewöhnliche Laboratoriumskulturen zu verwenden.

Die Sporenkulturen wurden auf Traubenzucker-Peptonagar in Petri-Schalen gezüchtet, die Granatpräparationen erhielten fortlaufende Nummern, und es wurden für sämtliche Versuche nur zwei Stämme, aus welchen der eine zu Granate No. 1, der andere zu den übrigen Nummern gebraucht wurde, verwendet.

Die Versuche sind bei 25° C ausgeführt worden; für jede Bestimmung kamen 25 Granaten zur Verwendung; die Schüttelung wurde mit 15 oder 20 ccm Wasser vorgenommen und die Verdünnungen von den Schüttelflaschen immer im Verhältnis 5 zu 45, und zwar ein- oder mehrmals, je nach Bedürfnis gemacht, da der Verdünnungsfehler, falls nicht eine sehr kleine Sporenzahl erreicht wird, ein ziemlich geringer war, was sich aus diesbezüglichen Versuchen herausstellte. Für jede Schale sind 3 ccm Sporenemulsion und 12 ccm Nähragar verwendet worden, und das Zählen wurde, wo nichts Besonderes mitgeteilt wird, nach einem 2-tägigen Aufenthalte bei 37° vorgenommen.

Es ist hier zu bemerken, daß überall, wo in den Tabellen „unverdünnt" steht, dies bedeutet, daß die Verteilung in dem Nährsubstrate direkt aus dem Inhalte der Schüttelflasche vorgenommen worden ist, während Verdünnung 10, 100 usw. bezeichnet, daß der Inhalt der Schüttelflasche im Verhältnisse 5 zu 45 oder zweimal 5 zu 45 usw. verdünnt worden ist.

Wie groß muß die Kolonieenzahl der Schalen sein?

Wenn man eine Reihe von Verdünnungen, z. B. im Verhältnisse 5 zu 45 betrachtet, wird es sich in der Regel herausstellen, daß aus 2 Schalen von 2 aufeinanderfolgenden Verdünnungen die aus der stärksten Verdünnung stammende nicht $^1/_{10}$ der Kolonieenzahl der anderen Schale enthält, sondern etwas mehr oder weniger, was teils von einem Verdünnungsfehler, teils von einer Zusammenwachsung der Kolonieen, einer Wachstumsstockung oder schließlich bei einer großen Kolonieenzahl von einer Unterdrückung wegen der Enge des Wachsgebietes herrührt.

Dieses Verhältnis geht deutlich aus den Tabellen I und II, wo in der ersten 29, in der zweiten 26 Versuche aufgeführt sind, hervor; für jeden Versuch werden 2 zahlenmäßige Bestimmungen mit Verdünnungen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.
Untersuchungen über die Kolonieenzahl der Platten.
Granate No. 1.

Versuch	Kolonieenzahl der einzelnen Platten				Mittel	Prozentischer Unterschied
	1	2	3	4		
1	8 0	11 0	8 0	. .	9 0	∞
2	12 3	22 3	13 2	. .	16 2,7	+ 69
3	22 1	36 0	18 3	. .	25 1,3	÷ 48
4	41 4	11 1	24 2	. .	25 2,3	÷ 8
5	45 5	54 3	51 5	. .	50 4,3	÷ 14
6	63 2	70 6	41 8	. .	58 5,3	÷ 9
7	79 2	60 1	50 3	. .	63 2,0	÷ 68
8	95 4	86 9	61 5	. .	81 6,0	÷ 26
9	101 8	69 11	83 8	. .	84,3 9,0	+ 7
10	92 11	90 10	8 3 7	. .	88 9,3	+ 6
11	78 13	101 12	94 13	. .	91 12,7	+ 40
12	140 5	141 6	147 18	155 25	146,7 14	÷ 5
13	133 11	151 13	140 9	. .	141,3 11	÷ 22
14	183 16	166 21	204 18	. .	184 18	÷ 2
15	300 23	277 27	286 32	. .	288 27	÷ 6
16	301 26	310 31	289 24	. .	300 27	÷ 10
17	291 31	358 22	341 41	. .	330 31	÷ 6
18	398 22	313 31	341 33	. .	351 29	÷ 17
19	311 41	406 29	356 38	. .	358 36	0
20	385 34	360 33	342 31	. .	362 33	÷ 9
21	418 31	334 29	370 41	. .	374 34	÷ 9
22	456 44	412 37	393 33	. .	420 38	÷ 10
23	473 49	435 31	412 48	. .	440 43	÷ 2
24	564 55	560 59	. .	. .	562 57	+ 1
25	727 76	750 70	746 69	754 —	744 72	÷ 3

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch	Kolonieenzahl der einzelnen Platten				Mittel	Prozentischer Unterschied
	1	2	3	4		
26	912	816	634	.	787	÷ 1
	68	76	89	.	78	
27	1020	908	979	.	969	+ 15
	113	81	141	.	112	
28	3611	4019	4316	.	3982	+ 4
	412	422	411	.	415	
29	3868	4016	4171	.	4018	+ 6
	466	396	412	.	425	

Tabelle II.
Untersuchungen über die Kolonieenzahl der Platten.
Granate No. 2.

Versuch	Kolonieenzahl der einzelnen Platten				Mittel	Prozentischer Unterschied
	1	2	3	4		
1	4	4	9	.	5,7	÷ 50
	1	0	0	.	0,3	
2	15	14	16	19	16	+ 44
	2	3	0	2	2,3	
3	15	17	21	.	18	+ 11
	1	4	1	.	2,0	
4	46	73	45	.	55	÷ 4
	1	6	5	9	5,3	
5	55	50	65	.	57	÷ 35
	3	3	5	.	3,7	
6	72	66	74	.	71	+ 5
	7	8	—	.	7,5	
7	63	69	118	57	77	+ 30
	7	8	11	14	10	
8	79	55	102	—	79	÷ 24
	4	6	11	3	6,0	
9	80	88	95	.	88	÷ 51
	4	4	5	.	4,3	
10	97	94	97	.	96	+ 20
	19	8	15	4	11,5	
11	157	152	158	.	156	+ 54
	22	22	27	.	24	
12	169	144	162	.	158	÷ 5
	12	17	—	.	15	
13	191	204	231	—	212	+ 4
	21	20	24	23	22	
14	233	234	194	192	213	÷ 15
	13	22	15	21	18	
15	221	202	181	—	218	÷ 40
	14	14	9	15	13	
16	237	240	264	244	246	+ 22
	30	34	35	22	30	
17	270	272	277	238	264	+ 25
	28	31	40	32	33	
18	291	279	—	.	285	+ 26
	28	36	44	.	36	
19	257	323	279	.	286	÷ 16
	20	28	23	.	24	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch	Kolonieenzahl der einzelnen Platten				Mittel	Prozentischer Unterschied
	1	2	3	4		
20	347	349	340	333	342	+ 5
	33	33	37	Inf.	36	
21	344	355	354	.	351	+ 51
	52	49	57	.	53	
22	504	451	470	505	483	+ 16
	58	56	53	57	56	
23	510	506	504	509	507	+ 18
	49	61	62	69	60	
24	1175	1131	1123	—	1143	+ 18
	132	141	118	148	135	
25	1169	1264	1154	1232	1205	+ 24
	144	165	133	152	149	
26	1389	1331	1232	.	1317	+ 24
	179	161	150	.	163	

im Verhältnis von 5 zu 45 mitgeteilt, und die Mittelzahl der letzten Verdünnung in jedem Versuche sollte somit $^1/_{10}$ der vorigen sein. Die letzte Kolonne gibt den prozentischen Unterschied zwischen den Mittelzahlen der für die 2 Verdünnungen gefundenen Kolonieenzahlen an, indem die obere Zahl immer als Ausgangspunkt verwendet worden ist. Die Versuche sind nach der Größe der Mittelzahlen geordnet.

Aus den Tabellen geht hervor, daß die Genauigkeit bei den von uns untersuchten Stämmen durchgehends am größten bei einer großen Kolonieenzahl ist, und ferner, daß innerhalb der in den Tabellen mitgeteilten Kolonieenzahlen keine obere Grenze gefunden worden ist. Die ist um so eigentümlicher, als von Madsen und Nyman gefunden worden ist, daß eine Kolonieenzahl von etwa 200 pro Schale von der verwendeten Größe (10 cm im Durchmesser) die obere Grenze einer zweckentsprechenden Genauigkeit war. Uebrigens ist es ersichtlich, daß die bei der Verwendung von Granate No. 1 erzielten Zahlen dnrchgehends am gleichmäßigsten sind, was möglicherweise von dem Umstande herrührt, daß der für diesen verwendete Milzbrandstamm kleine, ziemlich scharf abgegrenzte Kolonieen ergab, während der zu Granate No. 2 gebrauchte größere, stark wollige Kolonieen hatte, bei denen ein Zusammenwachsen voraussichtlich eine größere Rolle spielen könnte. Aeußere Gründe haben es unmöglich gemacht, den ersterwähnten Stamm für sämtliche Versuche zu verwenden.

Die Behandlung des Nährsubstrates.

Um gleichmäßige Resultate zu erzielen, ist es, wie schon von Krönig und Paul bemerkt worden ist, notwendig, das Nährsubstrat immer gleichartig zu sterilisieren. Der Einfluß der Sterilisierung geht aus den Tabellen III und IV hervor; der in Tabelle III aufgeführte Versuch ist in der Weise ausgeführt worden, daß jeden Tag 25 Granaten mit 15 ccm Wasser ausgeschüttelt wurden, und die Verteilung in einem Nähragar, welcher aus demselben Kolben stammte, vorgenommen wurde. Der Kolben wurde dann jeden Tag aufs neue im Autoklaven sterilisiert (ca. 10 Minuten auf 134°). Es erweist sich, daß die Kolonieenzahl nach jedem Autoklavieren eine Abnahme erfahren hat. Der Versuch in Tabelle IV wurde dagegen so ausgeführt, daß etwas gut gemischter

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

Einfluß der Sterilisation auf das Substrat.

Granate No. 10. Für jeden Versuch 25 Granaten. Verdünnung 100.

	Autoklaviert	Kolonieenzahl der einzelnen Platten			Mittel
		1	3	3	
8. März	1mal	276	282	295	284
9. „	2 „	166	192	176	178
10. „	3 „	126	110	122	119
11. „	4 „	113	112	102	109

Tabelle IV.

Einfluß der Sterilisation auf das Substrat.

Granate No. 10. Verdünnung 100.

Autoklaviert	Kolonieenzahl der einzelnen Platten				Mittel
	1	2	3	4	
1mal	131	141	122	135	132
3 „	94	96	95	83	92
6 „	22	21	Inf.	28	24

Agar auf mehrere sorgfältig gewaschene Kölbchen verteilt und 1—4mal autoklaviert wurde, um darauf an demselben Tage mit derselben Sporenemulsion probiert zu werden. Sterilisierung mittels strömenden Dampfes ohne Druck ist weniger nachteilig, und ein einzelnes Schmelzen auf dem Wasserbade unschädlich.

Fehlergrenzen bei der Methode von Krönig und Paul[1]).

Um die Größe der Abweichungen, womit bei dieser Methode gearbeitet wird, zu ermitteln, wurde erstens eine Reihe gleichartiger Versuche, und zwar jeder mit 25 Granaten ausgeführt. Die Granaten wurden mit der gewöhnlichen Anzahl von Auswaschungen behandelt (s. Schema); es kam aber kein Desinfektionsmittel zur Verwendung, weil das Ziel der

Tabelle V.

Untersuchung über die Fehler. Gleichzeitige Schüttelung von 13×25 Granaten. Keine Verwendung von Desinfektionsmitteln, aber nur von den gewöhnlichen Waschungen.

Granate No. 5. Schütteln mit 20 ccm Wasser.

Kolonieenzahl der einzelnen Platten				Mittel	Kolonieenzahl der einzelnen Platten				Mittel
1	2	3	4		1	2	3	4	
116	104	92	98	103	139	132	130	139	135
122	123	115	98	115	149	142	139	141	142
122	127	117	108	119	163	144	145	154	152
126	124	129	122	125	147	170	154	158	157
124	132	123	137	129	165	185	165	161	169
129	124	144	136	133	192	183	178	204	189
139	132	132	131	134					

1) Es muß hervorgehoben werden, daß es überall, wo eine Berechnung der Verschiedenheiten der Zahlen vorgenommen worden ist, sich nur um eine Berechnung der Abweichungen und um keine Fehlerberechnung handelt. Eine Berechnung vom Mittelfehler würde selbstverständlich niedrigere Werte ergeben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuche nur die Bestimmung der Unterschiede beim Waschen, der Verteilung und Schüttelung war. Die Versuche, welche an einem Tage ausgeführt und alle auf einmal geschüttelt wurden, finden sich auf Tabelle V.

Aus dieser geht hervor, daß der Unterschied zwischen dem größten und dem kleinsten der gefundenen Werte 46 Proz. ist.

Es war unsere Absicht, durch die in Tabelle VI aufgeführte Versuchsreihe die Größe der Abweichungen beim Auslassen der Auswaschungen zu untersuchen, und diese Versuche wurden an verschiedenen

Tabelle VI[1]).

Untersuchung über die Fehler. Schütteln an verschiedenen Tagen. Keine Verwendung von Desinficiens oder Waschungen; die Granaten sind direkt in die Schüttelflaschen getan.

Granate No. 9. Verdünnungen 1000.

Versuchsdatum	Kolonieenzahl der einzelnen Platten				Mittel	Prozentischer Unterschied der Doppelbestimmungen	Mittel der Mittelzahlen
	1	2	3	4			
25. Nov. 09	102 142	106 156	99 136	116 138	106 143	26	125
27. „ 09	94 132	98 117	94 122	94 124	95 124	23	110
29. „ 09	112 106	94 93	95 108	114 91	104 100	4	102
30. „ 09	104 56	100 60	106 61	98 75	102 63	38	83
2. Dez. 09	105 66	111 68	127 75	113 76	114 71	38	93
3. „ 09	90 74	93 51	85 91	84 68	88 71	20	80
7. „ 09	73 90	74 84	73 84	— 83	73 85	14	79
11. „ 09	66 79	68 65	82 72	69 79	71 74	4	73
14. „ 09	97 73	67 106	58 82	72 93	74 89	17	82
						Mittel 20 Proz.	

Tagen ausgeführt. Bei jedem der angeführten Daten ist ein Doppelversuch ausgeführt worden. Die Granaten wurden in eine Schüttelflasche, ohne vorausgehende Behandlung getan, und von dieser eine 3malige Verdünnung, jedesmal im Verhältnisse von 5 zu 45 vorgenommen. Es geht daraus hervor, daß die Abweichung pro Doppelversuch kleiner ist als in Tabelle V, von 4—38 Proz. wechselt und somit durchschnittlich 20 Proz. beträgt. Ferner scheint aus der Tabelle VI hervorzugehen, daß die Sporenzahl anfangs etwas größer ist als später, trotzdem die Granaten schon am 5. Nov. präpariert und fortwährend im Eiskeller aufgehoben worden waren. Die Aenderungen von Tag zu Tag sind aber

1) Beim Ausrechnen dieser und der folgenden prozentischen Unterschiede ist überall von der größten Zahl der einzelnen Doppelbestimmungen ausgegangen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

so klein, daß die aufeinanderfolgenden Versuche verglichen werden können.

Tabelle V läßt sich übrigens nicht direkt mit Tabelle VI vergleichen, weil es sich um verschiedene Granatpräparationen handelt.

Geht man zur Untersuchung über, wie es sich verhält, falls ein Desinfektionsmittel, in casu Sublimat, verwendet wird, so stellt sich heraus, daß die Unterschiede der einzelnen Bestimmungen bedeutend vergrößert werden, wie aus Tabelle VII, wo dieselbe Granatenpräparation wie in

Tabelle VII.

Untersuchung über die Fehler. Versuche an verschiedenen Tagen mit Verwendung von Sublimat als Desinficiens.

Granate No. 9. Verdünnungen 100. $HgCl_2$ 512 L. 5 Min.

Versuchsdatum	Kolonieenzahl der einzelnen Platten				Mittel	Prozentischer Unterschied der Doppelbestimmungen	Mittel der Mittelzahlen
	1	2	3	4			
7. Dez. 09	39 30	38 24	41 25	52 Inf.	42 26	38 Proz.	34
9. „ 09	59 31	57 17	60 21	57 24	58 23	60 „	41
11. „ 09	12 2	38 25	69 8	39 3	40 10	75 „	25
14. „ 09	42 20	41 18	40 20	39 16	41 19	54 „	30
15. „ 09	47 35	68 37	46 39	— 32	54 36	33 „	45

Mittel 52 Proz.

Tabelle VI verwendet worden ist, hervorgeht. Versuche, die an demselben Tage ausgeführt worden sind, sind, wie in Tabelle VI, Doppelversuche. Die sehr beträchtlichen Abweichungen rühren wahrscheinlich daher, daß die Sporen ungleichmäßig vom Desinfektionsmittel benetzt werden. Es scheint jedenfalls aus Tabelle VIII hervorzugehen, daß die Größe der Differenzen nicht von den Granaten herrührt. Diese Versuchsreihe wurde mit alkoholischen Sublimatlösungen, die steigende Alkoholmengen enthielten, ausgeführt; mit jeder Alkoholkonzentration ist ein Doppelversuch gemacht worden, die ganze Reihe wurde an einem Tage ausgeführt und gleichzeitig geschüttelt. Die Unterschiede in den Doppelversuchen variieren zwischen 2 und 28 Proz. und betragen im Durchschnitt 16 Proz.; im Vergleich mit dem Versuche auf Tabelle VII scheinen hier die Versuchsunterschiede kleiner zu sein, was möglicherweise darin gelegen sein könnte, daß der vorhandene Alkohol, wegen seines fettlösenden Vermögens, eine gleichmäßigere Wirkung auf die Sporen bedingt, ein Verhalten, welches der Wirkungsweise der in der Desinfektionstechnik verwendeten Karbol- und Kresolseifen analog sein würde.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VIII.

Versuche über die Fehler. Desinfiziens: Alkoholische Sublimatlösungen mit verschiedenem Zusatz von Aethylalkohol. Gleichzeitiges Schütteln.

Granate No. 9. $HgCl_2$ (+ Aethylalkohol) 512 L. 5 Min.

Alkoholzusatz	Verdünnung	Kolonieenzahl der einzelnen Platten				Mittel	Prozentischer Unterschied der Doppelbestimmungen
		1	2	3	4		
10 Proz.	10	240	248	269	219	244	10
	10	291	251	263	279	271	
20 „	10	251	238	207	234	233	20
	10	312	265	307	282	292	
30 „	100	71	80	79	90	80	18
	100	83	91	107	110	98	
50 „	100	155	188	159	162	166	28
	100	107	131	116	126	120	
75 „	100	273	274	268	276	273	2
	100	273	283	270	240	267	
							Mittel 16

B. Untersuchungen über die verschiedenen Prozeduren der Methode.

Wie viele Sporen werden bei der Ausführung der Methode ausgewaschen?

Die Unregelmäßigkeiten in den Tabellen könnten ja schließlich auch von dem Umstande herrühren, daß die Sporen mehr oder weniger leicht von den Granaten abgespült werden. Zwar wird von Krönig und Paul angegeben, daß ein Abspülen von Sporen nur eine unbeträchtliche Rolle spielt; dies könnte aber ein vereinzelter Fall sein, und wir haben deswegen auch dieses Verhältnis näher untersucht, denn falls die abgespülte Anzahl von Sporen mit der Einwirkungszeit des Desinfektions- resp. Ausweichungsmittels stiege, würde es in hohem Grade die Verwendbarkeit der Methode für Versuche über die Bedeutung der Einwirkungszeit beeinflussen, weil die von Desinfektionsmitteln hervorgerufene Abnahme der keimfähigen Sporen in dem Falle nicht allein von jenen herrührte, sondern zugleich von dem Umstande, daß die Sporen, je weiter fortgeschritten die Ausweichung war, allmählich leichter sich abspülen ließen, und es würde sich dann als Resultat herausstellen, daß die für die Einwirkungszeiten gefundenen Kurven einen zu schroffen Fall hätten, und daß mit anderen Worten die Versuche zu günstig für die Desinfektionsmittel ausfielen.

Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß die Granaten die gewöhnliche Anzahl von Auswaschungen durchmachten, und zwar so, daß die Behandlungen 1 und 3 des obenstehenden Schemas mittels Wasser ausgeführt wurden. Es sind ferner Versuche mit ungleichen Ausweichungszeiten (die dem Punkte 1 des Schemas entsprechende Behandlung) gemacht worden; aus sämtlichen ging aber hervor, daß die abgespülte Sporenanzahl eine unbeträchtliche ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kann die erste Auswaschung ausgelassen werden?

Die Auslassung würde eine größere Genauigkeit in der Einwirkungszeit des Desinfektionsmittels bei der gegebenen Versuchstemperatur ermöglichen, weil die Unterbrechung der Einwirkungszeit eigentlich von der Ausschüttelung in das Neutralisationsmittel gerechnet werden muß (siehe Schema). Um diese Frage zu eruieren, wurde eine Menge von Versuchen vorgenommen, deren Erfolg sehr variierend war. Es hatte bald den Anschein, als ob die Auswaschung notwendig wäre, bald schien sie überflüssig zu sein; es ließ sich dann denken, daß die widersprechenden Resultate von einer Ueberführung des bei der Neutralisation gebildeten Schwefelquecksilbers herrührten; dieser Körper zeigte sich aber als ein ungiftiger. Als wir kein bestimmtes Resultat erreichen konnten, haben wir die Auswaschung beibehalten.

Welches Neutralisationsmittel ist am besten: Ammoniumsulfhydrat (Schwefelammonium), Ammoniumpolysulfid oder Ammoniumsulfid?

Durch Versuche mit äquivalenten, mit Sublimat titrierten (Indikator: Essigsaures Bleioxyd-Papier) Lösungen dieser 3 Körper stellte es sich heraus, daß sie gleichmäßig verwendbar waren.

Ist die Schwefelammoniumbehandlung nachteilig?

Bezüglich dieser Frage liegen widersprechende Anschauungen vor, was möglicherweise teils von dem großen Versuchsfehler der Methode, teils von einer ungenügenden Auswaschung nach der Schwefelammoniumbehandlung herrührt, weil selbst sehr kleine Schwefelammoniummengen ein kräftig entwickelungshemmendes Vermögen besitzen. Unseren Versuchen zufolge scheint die Behandlung unschädlich zu sein.

Ist die Schwefelammoniumbehandlung notwendig?

Die Einführung der Geppertschen Schwefelammoniumbehandlung war für die theoretischen Desinfektionsuntersuchungen ein großer Fortschritt, denn es wurde erst dadurch möglich, eine scharfe Grenze für die Einwirkungszeit des Desinfektionsmittels zu setzen, eine Ueberführung von diesem in das Nährsubstrat zu verhindern und somit der Verwechselung der Begriffe Entwickelungshemmung und Schwächung bis zu dem Punkte, wo die Sporen nicht mehr in dem gegebenen Substrat keimen wollen, zu entgehen. An der Neutralisation klebt aber ein Ungemach, und zwar, daß sie nicht nur das freie Desinfektionsmittel, sondern auch das an den Membranen der Sporen gebundene beseitigt. Das auf diese Weise gebundene Desinfektionsmittel würde sie vielleicht getötet oder ihr Wachstum gehemmt und sie somit oft unschädlich gemacht haben; falls man deshalb nach der Sublimatbehandlung die Granaten sehr gründlich mit Wasser wüsche, möchte man somit annehmen, daß die Schätzung des Desinfektionsmittels exakter sein würde, weil in dem Falle nur das von den Sporen imbibierte Sublimat intakt blieb.

Es ist von H. Chick und C. J. Martin[1]) mitgeteilt worden, daß sie durch Behandlung einer Aufschwemmung von Staphylococcus

1) The principles envolved in the standardisation of desinfectans and the influence of organic matter upon germical value. (Journ. of Hyg. Vol. 8.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aureus mittels Sublimatlösung, Abzentrifugieren der Bakterien und Waschen mit Wasser bei wiederholtem Zentrifugieren kein Wachstum bei Ueberführen in das Nährsubstrat erhielten, während ein Kontrollglas, wo das Sublimat durch Schwefelwasserstofflösung neutralisiert worden war, Wachstum ergab, und die Verfasser ziehen gleichzeitig den für die praktische Desinfektion interessanten Schluß, daß eine derartige Neutralisation überall da stattfinden kann, wo die mit Sublimat behandelten Organismen mit faulenden, Schwefelwasserstoff entwickelnden,

Tabelle IX.

Ist die Schwefelammoniumbehandlung zu entbehren?

Granate No. 9. $HgCl_2$ 512 S.

Zeit		Zählung nach	Verdünnung	Kolonieenzahl der einzelnen Platten				Mittel	pro 5 Granaten berechnet
5 Min.	Mit Schwefelammonium	48 Std.	10	171	164	156	170	165	2200
	dgl.	72 „		171	164	156	171	166	2207
	Ohne Schwefelammonium	48 „	10	33	51	6	18	27	360
	dgl.	72 „		33	54	6	18	28	373
11 Min.	Mit Schwefelammonium	48 Std.	10	31	31	24	30	29	387
	dgl.	72 „		31	31	24	30	29	387
	Ohne Schwefelammonium	48 „	unverdünnt	10	19	12	19	15	20
	dgl.	72 „		10	20	13	21	16	21
15 Min.	Mit Schwefelammonium	48 Std.	unverdünnt	Inf.	74	65	71	70	93
	dgl.	72 „		—	74	69	73	72	95
	Ohne Schwefelammonium	48 „	„	4	9	1	7	5,3	7,1
	dgl.	72 „		4	9	1	8	5,5	7,3
20 Min.	Mit Schwefelammonium	48 Std.	unverdünnt	2	3	7	1	3,3	4,4
	dgl.	72 „		2	3	7	1	3,3	4,4
	Ohne Schwefelammonium	48 „	„	1	2	1	1	1,3	1,7
	dgl.	72 „		1	2	3	1	1,8	2,3

Eiweißkörpern in Berührung kommen: Man soll deswegen bei der Sublimatdesinfektion nur mit einer Wirkung rechnen, wenn die Organismen so abgeschwächt sind, daß sie nach sorgfältiger Neutralisation nicht in dem gegebenen Substrate auskeimen.

Um zu probieren, ob die oben besprochene Beobachtung auch für die speziellen Verhältnisse bei der Methode von Krönig und Paul gilt, sind 2 Parallelversuche mit verschiedenen Einwirkungszeiten der Sublimatlösung ausgeführt worden. Es kam zur Verwendung eine Sublimatlösung von der Stärke von 512 Liter, und die Wirkung wurde nach 5, 11, 15 und 20 Minuten in der Weise untersucht, daß zu jeder Zeit 2 Bestimmungen vorgenommen wurden, und zwar jede mit 25 Granaten, aus welchen der eine Satz mit Schwefelammonium und den gewöhnlichen Auswaschungen vor und nach der Neutralisation behandelt wurde, während der andere Satz keine Schwefelammoniumbehandlung erhielt, dagegen aber 3 Auswaschungen mit Wasser. Die Ausschüttelung ist mit 20 ccm Wasser vorgenommen worden, und die Versuche wurden nach

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

48 und 72 Stunden der schwächeren, nicht mit Schwefelammonium behandelten Sporen wegen, gezählt. Die Vermehrung nach 72 Stunden ist, wie aus der Tabelle ersichtlich, nur eine geringe gewesen; es geht übrigens, wie erwartet, daraus hervor, daß die Anzahl von keimfähigen Sporen beim Auslassen der Schwefelammoniumbehandlung bedeutend verringert wird; ihre Anzahl nimmt indessen ebenso regelmäßig wie die der mit Schwefelammonium behandelten ab. Wird aber die praktische Verwendbarkeit der Resultate berücksichtigt, so muß die Neutralisation, wie aus den obenstehenden Auseinandersetzungen hervorgeht, beibehalten werden.

Kann die letzte Auswaschung ausgelassen werden?

Um diese Auswaschung auslassen zu können, muß bewiesen werden, daß Schwefelammonium, selbst bei sehr kleiner Konzentration, keine entwickelungshemmenden Eigenschaften besitzt, denn etwas Schwefelammonium wird immer, falls die vorhergehende Auswaschung ausgelassen wird, in die Schüttelflasche übergeführt.

Es handelte sich somit nur darum, zu probieren, ob Schwefelammonium entwickelungshemmend wirken kann, ohne Rücksicht auf die für die Desinfektionsversuche besondere Technik mit Auswaschungen u. dgl. zu nehmen.

Wir haben erstens untersucht, wieviel von der für die Versuche verwendeten 3-proz. Schwefelammoniumlösung im allgemeinen mit den Granaten übergeführt wird, und haben gefunden, daß wir bei deren Herausnahme einer nach der anderen aus der Schwefelammonium enthaltenden Schale wenigstens 0,6 ccm beim Auslassen der zweiten Auswaschung in die Schüttelflasche überführten.

Nachdem dies festgestellt worden war, wurde der eigentliche Versuch auf die unten erwähnte Weise ausgeführt (Tabelle X):

150 Granaten wurden gleichmäßig unter 6 Flaschen verteilt, danach 15 ccm Wasser in jede Flasche getan, und in die Flasche No. 2 außerdem 0,5 ccm einer 3 proz. Schwefelammoniumlösung (mit Schwefelammonium hergestellt, von welchem 0,5 ccm 30,3 ccm einer Sublimatlösung 64 Liter neutralisierte) getan, während Flasche No. 1 ohne Schwefelammoniumzusatz als Kontrolle fungierte. In die Flasche No. 3 wurde 0,6 ccm von derselben Schwefelammoniumlösung eingeführt, in die Flasche No. 4 1,0 ccm, in No. 5 1,2 ccm und schließlich 4 ccm in No. 6. Der Inhalt wurde danach, mit Ausnahme von dem der Flasche No. 6, in der Weise korrigiert, daß alle dieselbe Flüssigkeitsmenge enthielten.

Der Inhalt der Flaschen wurde dann nach Schüttelung auf die gewöhnliche Weise teils unverdünnt, teils in bis 1000-facher Verdünnung, wie aus der Tabelle hervorgeht, auf Agarplatten verarbeitet, und es stellte sich heraus, daß das Schwefelammonium entwickelungshemmende Eigenschaften in hohem Grade entfaltet hatte.

Wir haben es gar nicht versucht, die untere Grenze für die Wachstumshemmung des Schwefelammoniums zu bestimmen, weil es, wie erwähnt, sich herausstellte, daß die beim Auslassen der Auswaschung übergeführten Mengen immer eine derartige Größe hatten, daß sie nachteilig wirkten.

Die Zählung wurde, wie gewöhnlich, nach 48 Stunden vorgenommen, und es hatte beim Wiederholen nach mehreren Tagen die Kolonieenanzahl sich nicht vergrößert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle X.
Entwickelungshemmender Einfluß von Schwefelammonium.
Granate No. 2.

	Verdünnung	Kolonieenzahl der einzelnen Platten			Mittel
		1	2	3	
Schüttelflasche No. 1 (ohne Schwefelammoniumzusatz)	unverdünnt	∞	∞	∞	∞
	10	∞	∞	∞	∞
	100	585	531	578	565
	1000	61	62	49	57
Schüttelflasche No. 2 (0,5 ccm Schwefelammoniumzusatz)	unverdünnt	4988	4130	—	4559
	10	∞	∞	∞	∞
	100	564	636	615	605
Schüttelflasche No. 3 (0,6 ccm Schwefelammoniumzusatz)	unverdünnt	332	413	—	373
	10	∞	∞	∞	∞
	100	850	816	853	840
	1000	81	84	105	90
Schüttelflasche No. 4 (1,0 ccm Schwefelammoniumzusatz)	unverdünnt	95	233	167	165
	10	∞	∞	∞	∞
	100	479	505	—	492
Schüttelflasche No. 5 (1,2 ccm Schwefelammoniumzusatz)	unverdünnt	7	3	2	4
	10	∞	∞	∞	∞
	100	965	986	1035	995
	1000	110	111	—	111
Schüttelflasche No. 6 (4,0 ccm Schwefelammoniumzusatz)	unverdünnt	30	12	18	20
	10	20	388	266	225
	100	682	756	705	714
	1000	93	Inf.	—	93

Als Resultat dieser Versuche muß hervorgehoben werden, daß Schwefelammonium somit giftig für die Sporen ist, und daß die zweite Auswaschung deswegen nicht ausgelassen werden kann; es muß ferner empfohlen werden, immer viel Wasser für diese Auswaschung zu verwenden, damit das übergeführte Schwefelammonium so stark wie möglich verdünnt wird.

C. Sublimat und Silbernitrat.

Da Silbernitrat ein in der Medizin häufig zur Verwendung kommendes, wirksames Desinfektionsmittel ist, würde es von Interesse sein, seine Desinfektionskraft zu untersuchen und mit der des Sublimats zu vergleichen, weil der zuletzt erwähnte Körper sowohl an sich, als auch im Vergleich mit anderen Desinfektionsmitteln ein so durchprobierter ist, daß er sehr wohl als Standard bei dergleichen Untersuchungen dienen kann.

Ein solcher, aber wenig erschöpfender Vergleich ist von Krönig und Paul in der oben zitierten Abhandlung vorgenommen worden. Sie fanden, daß Silbernitrat in wässeriger Lösung weniger bakterizid, als Sublimat auf Milzbrandsporen wirkt, während wir das entgegengesetzte Resultat erhalten haben.

Der Ausführung der Versuche stellte sich die Schwierigkeit entgegen, daß die Granaten eine schwache Fällung von Chlorsilber mit dem Nitrate ergaben, teils weil die Sporen selbst fällbare Chlorverbindungen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

enthielten, teils weil, trotz aller Vorsicht, kleine Mengen von Substratbestandteilen in die Sporenemulsionen, mit welchen die Granaten benetzt worden waren, übergeführt wurden. Da das Silbernitrat trotz der Fällung sich dennoch stärker sporizid, als das Sublimat erwies, haben wir gemeint, einige der Versuche anführen zu dürfen, selbst wenn der Vergleich zwischen den Wirkungen der verschiedenen Konzentrationen ein kaum ganz zuverlässiger ist, weil die erwähnte Fällung bei derselben Granatenanzahl bedeutender wird, je schwächer die zur Verwendung kommende Nitratkonzentration ist.

Wir haben Nitratlösungen in verschiedenen Konzentrationen, teils äquimolekulare, teils äquivalente, mit der verwendeten Sublimatkonzentration (512 Liter) untersucht.

Tabelle XI.
Vergleich zwischen Silbernitrat und Sublimat.
Granate No. 1.

Einwirkungszeit der Desinfektionen	Art der Desinfektionsmittel nebst Konzentration derselben	Verdünnung	Kolonieenzahl der einzelnen Platten				Mittel	pro 5 Granaten berechnet
			1	2	3	4		
	Keine Desinfekt.	100	327	369	378	—	358	35 800
2 Minuten	$AgNO_3$ 256 L	unverdünnt	256	239	242	—	246	246
	$AgNO_3$ 512 L	10	43	66	51	—	53	530
	$HgCl_2$ 512 L	100	133	124	129	137	131	13 100
3 Minuten	$AgNO_3$ 512 L	10	39	57	51	—	49	490
	$HgCl_2$ 512 L	10	727	746	750	754	744	7 440
5 Minuten	$AgNO_3$ 256 L	unverdünnt	120	122	121	—	121	121
	$AgNO_3$ 512 L	10	6	10	14	15	11	110
7 Minuten	$AgNO_3$ 256 L	unverdünnt	73	96	110	—	93	93
	$AgNO_3$ 512 L	„	85	94	106	—	95	95
	$HgCl_2$ 512 L	10	140	141	147	155	146	1 460
10 Minuten	$AgNO_3$ 512 L	unverdünnt	20	37	29	—	29	29
15 Minuten	$AgNO_3$ 256 L	unverdünnt	5	4	8	—	6	6
	$HgCl_2$ 512 L	„	190	239	175	129	183	183
20 Minuten	$AgNO_3$ 512 L	unverdünnt	39	44	39	46	42	42
	$HgCl_2$ 512 L	„	112	112	101	96	105	105
30 Minuten	$AgNO_3$ 512 L	unverdünnt	25	19	23	31	25	25
	$HgCl_2$ 512 L	„	33	41	36	80	48	48
40 Minuten	$AgNO_3$ 512 L	unverdünnt	8	6	15	17	12	17
	$HgCl_2$ 512 L	„	9	2	8	7	7	7
60 Minuten	$HgCl_2$ 512 L	unverdünnt	1	0	0	1	0,5	0,5

Die Versuche (Tabelle XI) wurden mit den bei der Krönig-Paulschen Methode üblichen Auswaschungen ausgeführt und die Neutralisation mittels Schwefelammonium bewerkstelligt. Wie erwähnt, hat das Silbernitrat sich bei unseren Versuchen nicht nur als stärker sporizid, als die damit äquimolekularen und äquivalenten Sublimatlösungen erwiesen, sondern $AgNO_3$ 1024 Liter hatte sogar eine größere Desinfektionskraft, als $HgCl_2$ 512 Liter (Tabelle XII).

Wegen der obenerwähnten Fällung wollen wir nicht auf eine nähere Schätzung der Versuche eingehen; sie machen nur auf einen einfachen Vergleich zwischen Sublimat und Silbernitrat Anspruch.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XII.
Vergleich zwischen Silbernitrat und Sublimat.
Granate No. 1 und 2. $AgNO_3$ 1024 L.

	Einwirkungsdauer der Desinfektionslösung	Art der Desinfektionsmittel nebst Konzentration derselben	Verdünnung	Kolonieenzahl der einzelnen Platten 1	2	3	Mittel	pro 5 Granaten berechnet
Granate No. 1	2 Minuten	$AgNO_3$ 1024 L	100	2	8	6	5	500
	11 „	dgl.	unverdünnt	33	33	35	34	34
	30 „	„	„	26	9	19	18	18
	2 „	$HgCl_2$ 512 L	100	133	124	137	131	13 100
Granate No. 2	2 Minuten	$AgNO_3$ 1024 L	10	76	65	82	74	740
	10 „	dgl.	10	15	13	15	14	140
	30 „	„	unverdünnt	5	11	16	11	11
	5 „	$HgCl_2$ 512 L	100	31	31	28	30	3 000

Um uns dagegen zu sichern, daß das erwähnte Verhältnis keine für einen einzelnen Stamm geltende Erscheinung ist, wurden die Versuche mehrmals mit 2 Stämmen wiederholt, und zwar mit demselben Resultate. Der Kürze wegen sind indessen nur zwei aus den zahlreichen Versuchen angeführt worden.

Zusammenfassung.

Mit unseren Versuchen haben wir hauptsächlich beabsichtigt, die Methode von Krönig und Paul in deren einzelnen Prozessen zu untersuchen, um zu sehen, ob etwaige Vereinfachungen möglich seien, und haben ferner die Versuchsfehler der Methode untersucht, um schließlich einen Vergleich zwischen Sublimat und Silbernitrat vorzunehmen.

1) Bei Verwendung der Krönig-Paulschen Methode muß man beim Ausführen von Doppelversuchen mit bedeutenden prozentischen Unterschieden rechnen.

2) Es scheint, als ob der Fehler für eine alkoholische Sublimatlösung kleiner, als für eine wässerige Sublimatlösung ist.

3) Wiederholte Autoklavierung des Nährsubstrates vermindert allmählich die Verwendbarkeit dessen, so daß die Kolonieenanzahl herabgesetzt wird.

4) Die während der Ausführung der Methode ausgewaschene Sporenanzahl ist unbedeutend.

5) Die erste Auswaschung kann nicht immer entbehrt werden.

6) Ammoniumsulfhydrat (Schwefelammonium), Ammoniumpolysulfid und Ammoniumsulfid sind, wie es scheint, als Neutralisationsmittel gleich verwendbar.

7) Die Schwefelammoniumbehandlung scheint unschädlich, wenn das Schwefelammonium wieder sorgfältig ausgewaschen wird, weil es selbst bei sehr geringer Konzentration entwickelungshemmend wirkt; die zweite Auswaschung ist deswegen unentbehrlich.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

8) Wird bei Versuchen mit Sublimat als Desinficiens die Schwefelammoniumbehandlung ausgelassen, so verringert sich die keimfähige Sporenanzahl bedeutend.

9) Wir haben gefunden, daß Silbernitrat bei den von uns verwendeten Versuchsbedingungen bedeutend stärker, als Sublimat auf Anthraxsporen wirkt.

Nachdruck verboten.

Ueber die Brauchbarkeit der Gruber-Widalschen Reaktion und der Fadenreaktion nach Mandelbaum zur Feststellung abgelaufener Typhusfälle.

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsstelle des Garnisonlazaretts Braunschweig.]

Von Stabsarzt Dr. **Dennemark.**

Mandelbaum hat an Stelle der Gruber-Widalschen Reaktion die „Fadenreaktion" angegeben[1]), eine Methode, die es ermöglichen sollte, die Diagnose „Typhus" zu stellen in den Fällen, in denen die Gruber-Widalsche Reaktion versagt, und dadurch die Grenzen der Diagnosestellung zu erweitern. Mittels einer Kapillarpipette, wie sie zu Opsoninversuchen angegeben ist, werden einige Tropfen Blut entnommen und gleichzeitig mit Bouillon, der Natriumcitrat zugesetzt ist, in der Verdünnung von etwa 1 : 10 bis 1 : 15 vermischt und mit Typhusbacillen versetzt. Bei positivem Ausfall der Reaktion sind bereits nach 4 Stunden die Bacillen in langen Ketten ausgewachsen, während nach 6 Stunden ebenfalls Ketten und Haufenbildung nachweisbar sind, dazwischen sich aber bereits eine Menge beweglicher Bacillen befinden und nach 8 Stunden nur noch bewegliche Bacillen sichtbar sein sollen. Dieselbe Reaktion soll nicht nur bei Typhuskranken auftreten, sondern auch bei Leuten, die Typhus bereits überstanden haben, auch vor längerer Zeit. Sämtliche untersuchten Personen, deren Infektion 1—11 Jahre zurücklag, haben eine positive Fadenreaktion gezeigt. Die Widalsche Reaktion war zur Vergleichung nicht in allen Fällen herangezogen; in den wenigen Fällen, wo dies geschehen ist, wurde sie in der Verdünnung 1 : 20 und 1 : 60 positiv gefunden. Die Reaktion selbst soll bei den abgelaufenen Typhen insofern anders verlaufen, als hier zwar auch lange Ketten, verschlungene Fäden und Haufen angetroffen werden, daneben sich aber auch bewegliche einzelne Individuen vorfinden. Die Fadenreaktion wäre also geeignet, nach Ablauf des Typhus innerhalb 1—11 Jahren mit Sicherheit ein positives Ergebnis zu liefern, während ihr positiver Ausfall bei einem längeren Zurückliegen der Erkrankung von Mandelbaum nicht beobachtet werden konnte.

Nachprüfungen dieser Fadenreaktion haben schon mehrfach stattgefunden. Zuerst hat Belonowski[2]) sie auf Grund von 7 Beobach-

1) München. med. Wochenschr. 1910. No. 4.
2) München. med. Wochenschr. 1910. No. 14.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tungen im Nikolaer Marinehospital zu Kronstadt bei 7 Typhuskranken nicht als zuverlässig gefunden. Gaehtgens und Kamm[1]) kamen auf Grund zahlreicher Untersuchungen zu dem Resultat, daß neben Häufchen und Ketten auch das Fehlen von Eigenbewegung der isolierten Bakterien Bedingung für die positive Beurteilung der Fadenreaktion sei. Sie sehen also den positiven Ausfall der Reaktion nicht ausschließlich in dem Wachstum der Bakterien zu Ketten, sondern sie haben neben der Bildung von Ketten auch Häufchenbildung beobachtet und betrachten den Verlust der Beweglichkeit der freien Bakterien als ein Zeichen des positiven Ausfalls der Reaktion. Für die Diagnose des klinischen Typhus bestätigte Kessler[2]) die Angaben Mandelbaums, für abgelaufene Fälle konnte er an der Hand von 15 Untersuchungen weder die Ueberlegenheit der Faden- noch der Gruber-Widalschen Reaktion dartun, doch wies er bereits im Gegensatz zu Mandelbaum nach, daß die Reaktion einerseits zwar nach 30-jährigem Zurückliegen der Erkrankung vorkommt, andererseits aber auch bereits nach Ablauf von nur 1 Jahre ausbleiben kann. Ast[3]) glaubt auf Grund seiner Erfahrungen bei einer kleinen Typhusepidemie in der Oberbayrischen Heil- und Pflegeanstalt Eglfing folgern zu dürfen, daß bei der Diagnose einer etwa stattgehabten Typhuserkrankung und bei der Suche nach Bacillenträgern das Mandelbaumsche Verfahren dem Gruber-Widalschen überlegen ist.

Um erneut den Wert dieser Fadenreaktion zur Feststellung von abgelaufenem bezw. vor langer Zeit überstandenem Typhus zu prüfen, habe ich Mannschaften im Bereiche des X. Armeekorps untersucht, die früher Typhus überstanden hatten. Es sind im ganzen 45 Soldaten, bei denen nach ihrer Angabe die Erkrankungen zwischen $^1/_2$ und 19 Jahren zurückliegen.

Wie Gaehtgens und Kamm, habe auch ich nicht das Blut direkt zur Untersuchung benutzt, sondern stets nur das abgesetzte Serum, so daß sich der Zusatz von Natriumcitrat zur Bouillon erübrigt. Auf diese Art und Weise wird es leicht ermöglicht, daß nur genau abgemessene Mengen des zu prüfenden Serums zur Untersuchung gelangen im Gegensatz zu Mandelbaum, der zu seinen Untersuchungen ein in seiner Konzentration wechselndes Blutgemisch, in der Verdünnung zwischen ca. 1 : 10 und 1 : 15 schwankend, benutzte. Kessler hat beobachtet, daß die Reaktion in dieser Konzentration ausbleiben, in einer größeren Verdünnung jedoch noch auftreten kann. Da ich dieselbe Beobachtung machen konnte, so entschloß ich mich, die Untersuchungen in folgenden Verdünnungen auszuführen: 1 : 10, 1 : 25, 1 : 50, 1 : 75, 1 : 100, 1 : 150, 1 : 200 und 1 : 300; und zwar wurden stets gleichzeitig nebeneinander zu Vergleichszwecken die Fadenreaktion und die Gruber-Widalsche Reaktion angestellt.

Die entnommenen Blutproben waren so reichlich bemessen, daß für jede angelegte Verdünnung, sowohl Fadenreaktion wie Gruber-Widalsche Reaktion, 1 ccm verdünnten Serums entfiel. In jedes Bouillonröhrchen wurde für die Fadenreaktion eine bestimmte kleine Oese einer

1) München. med. Wochenschr. 1910. No. 26.
2) München. med. Wochenschr. 1910. No. 26.
3) München. med. Wochenschr. 1910. No. 50.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

20-stündigen Bouillonkultur hineingebracht, die vorher mikroskopisch auf ihre Beweglichkeit geprüft war. Hierdurch wurde erreicht, daß die Röhrchen sämtlich den gleichen äußeren Verhältnissen ausgesetzt waren, daß also ihre Untersuchungsresultate zu Vergleichungen gegenseitig herangezogen werden konnten. Die Gruber-Widalsche Reaktion wurde nur makroskopisch beurteilt, wie deren Beurteilung ja im allgemeinen auch erfolgen soll. Sie wurde in der üblichen Form angestellt, wie ich sie bei anderer Gelegenheit ebenfalls ausgeführt und beschrieben habe[1]), derart, daß eine falsche Agglutination nicht vorgetäuscht werden konnte.

Die Beobachtung und Beurteilung der zur Fadenreaktion bestimmten Röhrchen erfolgte nach Mandelbaums Vorschrift nach 4 Stunden. Eine 2. Beobachtung fand nach weiteren 4 Stunden, eine 3. und letzte nach ca. 20 Stunden statt. Die Resultate in den einzelnen angesetzten Verdünnungen sind äußerst schwankend, teilweise sich widersprechend, so daß es angezeigt erscheint, die genauen Resultate der Einzeluntersuchungen in den verschiedenen Verdünnungen bekannt zu geben und gleichzeitig ihre Wechselbeziehungen zur Gruber-Widalschen Reaktion zur Anschauung zu bringen. Nur dadurch läßt es sich zeigen, welche der beiden Methoden den Vorzug verdient. Der Uebersichtlichkeit halber ist das Ergebnis der 2. Besichtigung der Fadenreaktionsröhrchen nach 8-stündigem Aussetzen bei Bruttemperatur fortgelassen worden, da sie im allgemeinen keine wesentliche Aenderung in den Resultaten gegenüber der 1. Untersuchung gezeitigt hat. Bei der Beurteilung der Resultate der 3. Untersuchung, also nach 20 Stunden, muß man in Betracht ziehen, daß durch die reichliche und fortwährend eintretende Vermehrung der Bakterien der Einfluß des spezifischen Serums beeinträchtigt sein kann.

Um den Wert einer Untersuchungsmethode zu bestimmen, kommt es unter anderem sehr wesentlich darauf an, innerhalb welcher Zeit man nach dem Ansetzen der Probe ein positives Ergebnis mit Bestimmtheit erwarten kann. Ich habe daher bei der Wiedergabe der Untersuchungsergebnisse 2 Hauptgruppen unterschieden, und zwar einmal 23 Proben, bei denen bereits nach 2 Stunden die Gruber-Widalsche Reaktion in der Verdünnung 1 : 25 noch ein positives oder doch wenigstens fragliches Ergebnis hatte, dann die 2. Hauptgruppe von 20 Personen, bei denen der positive Ausfall der Gruber-Widalschen Probe in dieser Verdünnung erst nach Ablauf von ca. 20 Stunden eingetreten ist. Da im allgemeinen die Gruber-Widalsche Reaktion nicht in der Verdünnung 1 : 10 angesetzt wird, so wurden die wenigen Fälle, die nur in dieser Verdünnung ein positives oder zweifelhaftes Ergebnis hatten, der 2. Hauptgruppe zugezählt. In beiden Hauptgruppen sind wieder mehrere Unterabteilungen vorhanden, die sich sehr wesentlich voneinander unterscheiden.

Wie oben bereits erörtert, sind stets sämtliche Verdünnungen von 1 : 10 bis 1 : 300 angesetzt und untersucht worden. Diejenigen Verdünnungen, die bei der Fadenreaktion normales Wachstum oder bei der Gruber-Widalschen Reaktion keine Häufchenbildung aufwiesen, sind in nachfolgenden Uebersichten nicht mit aufgeführt.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 54. H. 4.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

I. Hauptgruppe[1]).

(Gruber-Widalsche Reaktion nach 2 Stunden positiv.)

23 Fälle.

a) Die erste Unterabteilung umfaßt 14 Proben, bei denen nach 4-stündigem Aussetzen bei Bruttemperatur Kettenbildung nachweisbar, dagegen nach 20 Stunden nicht mehr vorhanden war (s. Tabelle p. 358 bis 360).

Die Proben 1—5 haben das Gemeinschaftliche, daß bei der Fadenreaktion in wechselnder Stärke die Kettenbildung auftritt, daß jedoch nach 4 Stunden Bruttemperatur die einzeln liegenden Individuen in den kleinen Verdünnungen ihre Beweglichkeit vollständig verloren haben. Nach 20 Stunden haben sich die Ketten größtenteils in Haufen umgewandelt, während die neu gewachsenen Bakterien ihre Beweglichkeit zum Teil nicht eingebüßt haben. Beachtenswert ist die Probe 2, bei der nach 20 Stunden in der Verdünnung 1:10 neben reichlicher Agglutination die isoliert lebenden Bakterien gute Beweglichkeit aufweisen, dagegen aber in der Verdünnung 1:50 neben gut beweglichen auch weniger gut bewegliche vorhanden sind, eine Erscheinung, die auch in der Verdünnung 1:75 noch, wenn auch in geringerem Grade, vorhanden ist, in der 1:100 aber nicht mehr besteht.

Ein ganz merkwürdiges Verhalten zeigt Probe 5. Bei positiver Widalscher Reaktion ist in der Verdünnung 1:10 die Kettenbildung nicht eingetreten, dagegen haben die Bakterien ihre Beweglichkeit vollständig verloren. Andererseits besteht in der Verdünnung 1:25 ausgesprochene Bildung von Ketten, die aber lebhaft beweglich sind.

In den Proben 6—14 besteht bei den Einzelindividuen eine mehr oder weniger ausgesprochene Beweglichkeit auch in den konzentrierten Verdünnungen. Man müßte nun annehmen, daß mit dem zunehmenden Verdünnungsgrad auch die Beweglichkeit der Einzelbakterien zunehmen würde. Das ist aber nicht der Fall, wie sich an mehreren Serumproben dartun läßt. Ein gutes Beispiel hierfür bietet Probe No. 8. Hier finden wir bei stark positiver Widalscher Reaktion in der Verdünnung 1:10 kleine unbewegliche Ketten, in 1:25 sind kleine lebhaft bewegliche Ketten, dagegen in 1:50 größere und schwerfällig bewegliche Ketten. Die Verdünnung 1:75 enthält wiederum reichlich kleine, lebhaft beweg- Ketten. Ein ähnliches Bild bietet auch die Probe 9, bei der die Beweglichkeit nur in der Verdünnung 1:25 vermindert ist, während in den übrigen Verdünnungen Ketten sowohl wie Einzelbakterien lebhaft beweglich sind.

Ein interessantes Ergebnis liefert die Probe 10. Hier sind in 1:10 größere bewegliche und unbewegliche Ketten vorhanden, Agglutinationshaufen fehlen; die Verdünnung 1:25 zeigt ein geradezu umgekehrtes Verhalten, sie besitzt nur Agglutinationshaufen und keine Ketten. Wenn auch bei ausgesprochener Agglutinationsbildung ein Zustandekommen von Kettenwachstum zu beobachten ist, so scheint doch zweifellos ein gewisser Zusammenhang zwischen Agglutination und Kettenbildung zu bestehen. Werden in kleinen Verdünnungen Agglutinationshaufen beob-

1) Erklärung der Abkürzungen: ++ = stark positiv bezw. sehr lebhaft beweglich. + = positiv bezw. gut beweglich. — = negativ bezw. unbeweglich. gr. = groß. kl. = klein. schw. = schwach.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lfde No.	Bezeichnung des Serums	Vor wieviel Jahren Typhus?	Grad der Verdünnung	Widal nach		Fadenreaktion							
						nach 4 Stunden				nach 20 Stunden			
				2 Std.	20 Std.	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit
1	Hus. E.	2	1:10	±?	++	+	gr. +	+	—	+	—	+	—
			1:25	±	+	+	„ +	+	—	+	—	+	—
			1:50	—	+	—	—	+	+	—	—	+	+
2	Kan. A.	5	1:10	+	++	—	kl. u. gr. +	+	—	++	—	+	+
			1:25	+	++	+ schw.	„ „ „ +	+	—	++	—	+	+
			1:50	+	+	+ „	„ „ „ +	+	—	+	—	+	teils lebhaft, teils wenig beweglich
			1:75	+	+	+ „	„ „ „ +	+	etwas bewegl.	+	—	+	dgl., doch nimmt die Beweglichkeit zu
			1:100	—	+	—	—	+	wenig bewegl.	+ schw.	—	+	++
			1:150	—	+	—	—	+	mehr bewegl.	—	—	+	++
			1:200	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
			1:300	—	±	—	—	+	++	—	—	+	++
3	Musk. St.	6	1:10	++	++	—	kl. +	—	meist —	+	—	++	+
			1:25	+	+	—	„ +	+ (wenig)	Ketten etwas mehr, isolierte wenig beweglich	+	—	++	+
			1:50	—	+	—	—	+	zum Teil wenig beweglich	—	—	+	++
4	Musk. N.	½	1:10	+	+	+	—	—	—	+	—	+	+
			1:25	+	+	—	gr. +	—	—	+	—	+	+
			1:50	±	+	—	„ +	—	fast —	—	—	+	+
			1:75	—	+ schw.	—	„ +	+	„ —	—	—	+	++
5	Musk. Gebr.	3	1:10	+	++	—	—	+	—	+ schw.	—	+	+
			1:25	+	+	—	gr. +	—	++	+	—	+	+
			1:50	—	+	—	kl. +	+	++	—	—	+	++

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Lfde No.	Bezeichnung des Serums	Vor wieviel Jahren Typhus?	Grad der Verdünnung	Widal nach		Fadenreaktion							
						nach 4 Stunden				nach 20 Stunden			
				2 Std.	20 Std.	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit
6	Kan. L.	17	1:10	+	++	+ schw.	gr. +	—	+ und —	+	—	++	+
			1:25	+	+	+ „	„ +	—	+ „ —	+ schw.	—	++	+
			1:50	—	+	—	kl. +	—	+ „ —	—	—	+	++
7	Musk. M.	13	1:10	+	++	—	kl. +	+	wenig bewegl.	+	—	++	+
			1:25	+	++	—	+	++	„ „	+	—	++	+
			1:50	+ schw.	+	—	—	+	„ „	+ schw.	—	++	+
			1:75	—	+	—	—	+	+	—	—	+	++
			1:100	—	+ schw.	—	—	+	++	—	—	+	++
8	Musk. D.	8	1:10	++	++	—	kl. +	—	—	++	—	+	schwer beweglich
			1:25	+	+	—	„ +	—	++	+	—	+	mehr bewegl.
			1:50	++	++	—	gr. +	+	Ketten schwerfällig, isolierte lebhaft beweglich	+	—	+	+
			1:75	+	++	—	kl. ++	+	Ketten: ++ Isolierte: ++	—	—	++	++
			1:100	+	++	—	—	++	++	—	—	+	++
			1:150	+	++	—	—	+	++	—	—	+	++
			1:200	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
9	Unteroff. D.	2	1:10	±	+ schw.	—	gr. +	—	+	—	—	+	++
			1:25	+	+	—	„ +	—	schwerfällig beweglich	—	—	+	++
			1:50	—	+	—	++	—	++	—	—	+	++
			1:75	—	+	—	++	+	++	—	—	+	++
			1:100	—	—	—	++	+	++	—	—	+	++
			1:150	—	—	—	+	++	++	—	—	+	++
			1:200	—	—	—	+ (wenig)	++	++	—	—	+	++

Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lfde No.	Bezeichnung des Serums	Vor wieviel Jahren Typhus?	Grad der Verdünnung	Widal nach		Fadenreaktion							
						nach 4 Stunden				nach 20 Stunden			
				2 Std.	20 Std.	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit
10	Musk. K.	6	1:10	±	+	—	gr. +	—	+ und —	+	—	++	++
			1:25	+	+	+	—	—	—	+	—	++	++
			1:50	—	+	—	—	+	+	—	—	+	++
11	Musk. Kr.	3	1:10	—	+	—	gr. +	+	langsam beweglich	—	—	+	+
			1:25	+	++	+ schw.	„ +	+	dgl.	+	—	+	+
			1:50	+	+	—	—	+	+	—	—	+	++
			1:75	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
			1:100	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
			1:150	—	+ schw.	—	—	+	++	—	—	+	++
12	Musk. B.	5	1:10	±	+ schw.	—	gr. +	+	+	+	—	++	++
			1:25	±	++	—	„ +	+	++	+	—	+	—
			1:50	—	+	—	„ +	+	++	+ schw.	—	++	+ (gering)
			1:75	—	—	—	„ +	++	++	—	—	+	++
13	Musk. T.	12	1:10	—	+	—	gr. +	—	+	+ schw.	—	++	+
			1:25	+	+	—	„ +	—	+	—	—	+	++
			1:50	±	+	—	„ +	+	++	—	—	+	++
			1:75	±	+	—	+	++	++	—	—	+	++
			1:100	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
			1:150	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
			1:200	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
14	Vizewacht. V	9	1:10	±	+	+	—	+	+	—	—	+	++
			1:25	+	+	+	kl. +	—	+ und —	—	—	+	++
			1:50	—	+	+ schw.	—	+	+	—	—	+	++

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

achtet, so ist eine Kettenbildung in größeren Verdünnungen nicht ausgeschlossen (vgl. Probe 14 und 25).

In No. 10 ist gerade das Umgekehrte der Fall, da die kleinere Verdünnung Kettenbildung, die größere Agglutinationshaufen zeigt. Es ist dies wohl damit zu erklären, daß die die Agglutination hemmenden Momente der geringen Serumverdünnung die Bildung von Ketten beim Wachstum noch zugelassen haben.

Auffallend ist die teilweise Störung der Beweglichkeit in Probe 12. Denn während sämtliche Verdünnungen nur bewegliche Ketten und Einzelbakterien enthalten, ist die Beweglichkeit in der Verdünnung 1:25 nach 20-stündigem Aussetzen der Bruttemperatur verloren gegangen. Hier muß die Wirkung der Agglutinine erst mit der Zeit stärker eingewirkt haben, da sie innerhalb von 4 Stunden nur die Bildung von Ketten zugelassen, nach längerer Zeit jedoch aus diesen die Agglutinationshaufen gebildet haben. Die hierzu nicht verbrauchte Agglutinationskraft hat ausgereicht, den später gewachsenen Bakterien ihre Beweglichkeit zu nehmen. In der Verdünnung 1:50 ist die Agglutination geringer und die Beweglichkeit etwas größer geworden. Daß die Verdünnung 1 : 10 nur bewegliche Bakterien aufweist, dürfte auf die schon erwähnte hemmende Eigenschaft des Serums zurückzuführen sein. Das wirkliche Vorhandensein dieser hemmenden Stoffe beweist der Ausfall der Gruber-Widalschen Reaktion, die nach 20 Stunden in der Verdünnung 1:10 nur schwach positiv, dagegen in 1:25 stark positiv ist. Das Zustandekommen dieses Ergebnisses bei der Fadenreaktion in der Verdünnung 1:10 dürfte wohl so zu erklären sein, daß die Agglutinine, soweit sie nicht durch Hemmungsmomente ihre Kraft verloren haben, zur Haufenbildung vollständig verbraucht wurden und daß die von diesem Zeitpunkt ab gewachsenen Bakterien ihre Beweglichkeit in dieser Verdünnung unverändert erhalten haben.

b) Die zweite Unterabteilung umfaßt 7 Proben, bei denen sowohl nach 4-stündigem wie nach 20-stündigem Aussetzen der Bruttemperatur Kettenbildung nachweisbar war (s. Tabelle p. 362).

Aus diesen 7 Proben sowohl wie aus den später angeführten Untersuchungsresultaten ist, wie bei der ersten Unterabteilung ausgeführt, ebenfalls häufig ein schwankendes Verhalten in der Beweglichkeit der Ketten wie Einzelbakterien ersichtlich, so daß es im allgemeinen überflüssig erscheint, darauf näher einzugehen.

Ein interessantes Resultat in Bezug auf die Kettenbildung liefert Probe 17. Während nach 4 Stunden Kettenbildung bis zur Verdünnung 1:75 aufgetreten ist, ist sie nach 20 Stunden nur in der Verdünnung 1:50 wahrnehmbar. In den Verdünnungen 1:10 und 1:25 sind die Ketten und freien Bakterien durch das lange Einwirken des Serums vollständig in Agglutinationshaufen umgewandelt worden, die bei 1 : 50 vollständig fehlen. Dafür, daß Ketten nach Ablauf von mehreren Stunden durch Wachstumerscheinungen verschwinden können, sind sämtliche 14 Proben der ersten Unterabteilung ein deutlicher Beweis. Der Ausfall dieser Probe zeigt, daß schwache Serumsverdünnungen durch lang andauernde Einwirkung allmählich eine vollständige Agglutination herbeiführen können, daß aber in stärkeren Verdünnungen, in denen die Kraft zur vollständigen Agglutination fehlt, eine Kettenbildung noch bewirkt bzw. erhalten werden kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lfde No.	Bezeichnung des Serums	Vor wieviel Jahren Typhus?	Grad der Verdünnung	Widal nach 2 Std.	Widal nach 20 Std.	Fadenreaktion nach 4 Stunden: Agglutination	Fadenreaktion nach 4 Stunden: Ketten	Fadenreaktion nach 4 Stunden: Isolierte Bakterien	Fadenreaktion nach 4 Stunden: Beweglichkeit	Fadenreaktion nach 20 Stunden: Agglutination	Fadenreaktion nach 20 Stunden: Ketten	Fadenreaktion nach 20 Stunden: Isolierte Bakterien	Fadenreaktion nach 20 Stunden: Beweglichkeit
15	Unteroff. F.	3	1:10	+ schw.	+ schw.	—	gr. +	+	meist —	—	gr. +	++	+
			1:25	+	++	—	„ +	—	++	—	„ +	++	+
			1:50	+	++	—	„ +	+	++	+ schw.	„ +	++	++
			1:75	+	+	—	„ +	+	++	+ „	gr. + (gering)	++	++
			1:100	—	+	—	kl. +	++	++	+ „	„ + „	++	++
			1:150	—	+	—	—	+	++	+ „	„ + „	++	++
			1:200	—	±	—	—	+	++	+ „	„ + „	++	++
16	Gefr. B.	6	1:10	+ schw.	+	—	kl. +	—	++	—	kl. +	++	++
			1:25	+	+	—	„ +	—	++	—	„ +	++	++
			1:50	—	±	—	—	+	++	—	„ +	++	++
			1:75	—	—	—	—	+	++	—	„ +	++	++
17	Musk. B.	4	1:10	++	++	++	+ (wenig)	—	—	++	—	—	+
			1:25	++	++	+	gr. +	—	+	+	—	—	+
			1:50	+	+	+	„ +	—	+	—	kl. +	—	wenig beweglich
			1:75	+	+	+	„ +	—	+	—	—	+	+
			1:100	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+
			1:150	+	+	—	—	+	++	—	—	+	++
			1:200	±	+	—	—	+	++	—	—	+	++
			1:300	—	±	—	—	+	++	—	—	+	++
18	Kan. L.	10	1:10	++	++	—	—	+	+	++	—	—	—
			1:25	+	++	—	gr. +	—	+	+	—	—	—
			1:50	±	++	—	„ +	—	+	+	—	—	—
			1:75	—	++	—	„ +	—	+	+ schw.	+	—	schwerfällig bewegl.
			1:100	—	+	—	—	+	+	+ „	+	—	+
			1:150	—	+	—	—	+	++	—	—	+	+
19	Musk. B.	4	1:10	+	+	—	kl. +	+	+	+	—	+	+
			1:25	+	+	—	—	+	+	+	kl. +	—	+
			1:75	+	+	—	—	+	+	+ schw.	„ +	+	+
20	Musk. R.	6	1:10	+	++	—	kl. +	++	+	+	++	+	+
			1:25	+	+	—	„ +	+	—	+	kl. +	+	—
			1:50	+	+	—	—	+	+	+	„ +	+	+
21	Musk. S.	3	1:10	+	+	—	+	—	w. bewegl.	+	„ +	—	++
			1:25	+	+	—	gr. +	—	+	++	—	—	—
			1:50	+ schw.	+	—	—	+	+	+	—	—	—
			1:75	—	+	—	—	+	+	—	kl. +	—	+
			1:100	—	±	—	—	+	++	—	„ +	—	+

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dasselbe Bild liefert die 18. Untersuchung, mit dem Unterschiede, daß hier die Verdünnungen 1 : 75 und 1 : 100 nach 20 Stunden die Kettenbildung besitzen.

Daß die Kettenbildung nach 20 Stunden in höheren Verdünnungen vorhanden sein kann, als nach 4 Stunden, das zeigen die Proben 19, 20 und 21. Letztere Probe zeichnet sich noch dadurch besonders aus, daß die Verdünnungen 1 : 10, 1 : 75 und 1 : 100 Kettenbildung zeigen, dagegen trotz mehrfacher Untersuchungen nicht die Verdünnungen 1 : 25 und 1 : 50. Auf den ersten Blick muß dieser Befund befremden. Warum aber gerade in diesen Verdünnungen die Kettenbildung ausgeblieben ist, hängt zweifellos mit dem Grade der Agglutination zusammen. 1 : 10 hat durch Hemmungsmomente keine allgemeine Agglutination zustande bringen können, daher war zur Kettenbildung die Möglichkeit gegeben. In den Verdünnungen 1 : 25 und 1 : 50 wurden die Agglutinine zur Haufenbildung vollständig verbraucht. In der Verdünnung 1 : 75 fehlt die Agglutination ebenso wie in 1 : 100, doch hat das, wenn auch stärker verdünnte, also von Hemmungsmomenten befreite Serum noch die Fähigkeit, die Kettenbildung hervorzurufen. Daher dies anscheinend widersprechende Resultat.

c) Die dritte Unterabteilung umfaßt 2 Proben, von denen die eine Ketten überhaupt nicht gebildet hat, die andere erst nach 20 Stunden.

Lfde No.	Bezeichnung des Serums	Vor wieviel Jahren Typhus?	Grad der Verdünnung	Widal nach		Fadenreaktion							
						nach 4 Stunden				nach 20 Stunden			
				2 Std.	20 Std.	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit
22	Musk. L.	8	1 : 10	—	+	+ schw.	—	+	+	+ schw.	—	+	+ und —
			1 : 25	+	+	—	—	+	++	+	—	+	+ „ —
			1 : 50	—	—	—	—	+	++	—	—	+	++
23	Reservist L.	$1^1/_2$	1 : 10	—	+	—	—	+	+ (ger.)	+ schw.	—	+	+
			1 : 25	—	+	—	—	+	+	+ „	—	+	+ und —
			1 : 50	±	++	—	—	+	+	+ „	gr. +	—	+(wenig)
			1 : 75	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
			1 : 100	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
			1 : 150	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
			1 : 200	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++

No. 23 zeigt Kettenbildung erst nach 20 Stunden, und zwar in der Verdünnung 1 : 50. Die kleinen Verdünnungen zeigen aber in diesem Falle keine totale Agglutination. Vielmehr besteht in beiden nur eine ausgesprochen geringe Häufchenbildung. Doch ist eine Steigerung weniger in der Agglutinabilität als vielmehr in der Beweglichkeit bzw. Unbeweglichkeit und Kettenbildung unverkennbar. 1 : 10 hat keine Ketten, geringe Agglutination und gut bewegliche Einzelbakterien. 1 : 25 hat neben der nicht stärker auftretenden Agglutination fast nur unbewegliche Einzelbakterien. 1 : 50 aber zeichnet sich neben der geringen Agglutination durch größere Kettenbildung aus. Die Verdünnung 1 : 75 liefert kein positives Resultat. Zieht man nun zur Vergleichung die Gruber-Widalsche Reaktion heran, dann zeigt sich, daß gerade die Verdünnung 1 : 50 für die Agglutination die günstigsten Bedingungen bietet. Auffallenderweise war erst die Verdünnung 1 : 50 nach 2 Stunden Brut-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lfde No.	Bezeichnung des Serums	Vor wieviel Jahren Typhus?	Grad der Verdünnung	Widal nach			Fadenreaktion nach 4 Stunden				Fadenreaktion nach 20 Stunden			
				2 Std.	4 Std.	20 Std.	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit
24	Musk. B.	3	1:10	±	±	+	+ schw.	+	—	+	+	—	+	+
			1:25	—	±	+	—	+ wenig	+	schwer bewegl.	+	—	+	+
			1:50	—	—	+	—	+ „	+	„ „	+	—	+	+
			1:75	—	—	+	—	+ „	+	besser bewegl.	—	—	+	++
			1:100	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
25	Musk. M.	3	1:10	—	+	+	+	—	+	+ und —	+	—	+	+
			1:25	—	±	+	+ schw.	kl. +	+	+	+ schw.	—	+	+
			1:50	—	—	+	+ „	„ +	+	+	—	—	+	+
			1:75	—	—	+	—	„ +	+	+	—	—	+	++
			1:100	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
26	Musk. V.	6	1:10	+	+	+	—	kl. +	—	+	—	—	+	++
			1:25	—	—	+	—	—	+	+	—	—	+	++
27	Kan. P.	5	1:10	—	±	+	—	kl. +	—	+	—	—	+	++
			1:25	—	—	+	—	—	+	+	—	—	+	++
			1:50	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
			1:75	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
28	Musk. M.	19	1:10	—	+	+ schw.	—	gr. +	++	+	—	—	+	++
			1:25	—	—	+	—	—	+	+	—	—	+	++
			1:50	—	—	±	—	—	+	++	—	—	+	++
			1:75	—	—	—	—	—	+	++	—	—	+	++
			1:100	—	—	—	—	—	+	++	—	—	+	schwerfällig bewegl.
			1:150	—	—	—	—	—	+	++	—	—	+	„ „
			1:200	—	—	—	—	—	+	++	—	—	+	„ „
			1:300	—	—	—	—	—	+	++	—	—	+	„ „
			1:500	—	—	—	—	—	+	++	—	—	+	++
29	Hus. M.	11	1:10	—	—	+	—	kl. +	—	++	+	—	+	++
			1:25	—	—	+	—	„ +	—	+	+	—	+	++
			1:50	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
30	Musk. E.	4	1:10	—	—	+ schw.	—	kl. +	+	+	+	—	+	+
			1:25	—	±	+	—	gr. +	—	—	—	—	+	+
			1:50	—	—	+	—	kl. +	—	+	+ schw.	—	+	+
			1:75	—	—	+	—	—	+	+	+	—	+	++
			1:100	—	—	+	—	—	+	+	—	—	+	++
31	Hus. N.	17	1:10	—	+	++	—	gr. u. kl. +	—	langsam bewegl.	+	—	+	+
			1:25	—	+	++	—	—	+	+	+	—	+	+
			1:50	—	—	+	—	—	+	++	+ schw.	—	+	++
			1:75	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
			1:100	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

temperatur zweifelhaft positiv, dieselbe Verdünnung zeigte sich aber am anderen Tage bei weitem am stärksten positiv, so daß in diesem Falle die Annahme berechtigt erscheint, daß gerade die Verdünnung 1:50 nach Abschwächung der störenden Momente sowohl für die Agglutination wie für die Kettenbildung die günstigsten Verhältnisse lieferte.

II. Hauptgruppe.

(Widal nach 2 Stunden negativ.)

20 Fälle.

a) Wie bei der ersten Hauptgruppe, unterscheiden wir bei der zweiten dieselben Unterabteilungen. Zur ersten Unterabteilung gehören 8 Proben, bei denen nach 4 Stunden Kettenbildung vorhanden, nach 20 Stunden nicht mehr vorhanden war (s. Tabelle p. 364.)

Ein besonders auffallendes Resultat, ohne daß dafür eine Erklärung anzuführen wäre, liefert Probe No. 28. Bei schwach positiver Gruber-Widalscher Reaktion tritt Kettenbildung nach 4 Stunden nur in der Verdünnung 1:10 auf, nach 20 Stunden fehlt diese vollkommen, doch nimmt die Beweglichkeit in den Verdünnungen 1:100 bis 1:300 ganz beträchtlich ab. Die Verdünnung 1:500 zeigt erst wieder normales Wachstum!

Beachtung verdient auch Probe No. 30. Verdünnung 1:10 liefert kleine Ketten, gut beweglich; 1:25 lange Ketten, nicht beweglich; 1:50 kleine Ketten, gut beweglich, ein Zeichen, daß die Beeinflussung der Beweglichkeit nicht im Zusammenhang zu stehen braucht mit der Bildung von Ketten.

b) die zweite Unterart wird gebildet von Untersuchungsresultaten, bei denen sowohl nach 4 Stunden wie nach 20 Stunden Kettenbildung aufgetreten ist:

Lfde No.	Bezeichnung des Serums	Vor wieviel Jahren Typhus?	Grad der Verdünnung	Widal nach			Fadenreaktion							
							nach 4 Stunden				nach 20 Stunden			
				2 Stunden	4 Stunden	20 Stunden	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit
32	Musk. H.	12	1:10	—	±	+	—	kl. +	—	+	+ schw.	kl. +	+	+
			1:25	—	—	+	—	—	+	++	+ „	„ +	+	++
33	Musk. D.	6	1:10	—	—	+ schw.	—	kl. +	—	+	+ „	„ +	—	+
			1:25	—	+	+	—	„ +	—	+ (schwächer)	+ „	„ +	—	+
			1:50	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
34	Musk. B.	½	1:10	—	+	+	—	kl. +	+	+	+ schw.	—	+	+
			1:25	—	—	+	—	„ +	—	—	—	kl. +	—	+ (langsam)
35	Musk. H.	6	1:10	—	+	+	—	+	—	—	+	—	+	+
			1:25	—	+	+	—	gr. +	—	+	+	—	+	+
			1:50	—	—	+	—	kl. +	—	++	+ schw.	kl. +	—	+
			1:75	—	—	+	—	—	+	++	+ „	„ +	—	+

Probe No. 35 ist wiederum ein gutes Beispiel für die Wechselbeziehungen zwischen Agglutination und Kettenbildung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

c) Die dritte Unterart enthält 3 Proben, bei denen die Kettenbildung nach 4 Stunden nicht, wohl aber nach 20 Stunden aufgetreten ist. Außerdem 5 Proben, bei denen eine Kettenbildung überhaupt nicht beobachtet werden konnte:

Lfde No.	Bezeichnung des Serums	Vor wieviel Jahren Typhus?	Grad der Verdünnung	Widal nach			Fadenreaktion							
							nach 4 Stunden				nach 20 Stunden			
				2 Std.	4 Std.	20 Std.	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit	Agglutination	Ketten	Isolierte Bakterien	Beweglichkeit
36	Musk. R.	3	1 : 10	+ schw.	+	+	+	—	+	--	+	kl. +	—	+
			1 : 25	—	—	+	+	—	+	—	+	kl. +	—	+
			1 : 50	—	—	+	—	—	+	+	—	—	+	++
37	Musk. H.	5	1 : 10	—	±	+	—	—	+	++	—	—	+	+
			1 : 25	—	—	+	—	—	+	++	—	kl. +	—	++
38	Kan. P.	3	1 : 10	—	±	+	+ schw.	—	+	+	+ schw.	—	+	+
			1 : 25	—	+	++	—	—	+	++	+	kl. +	—	+
			1 : 50	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	+
			1 : 75	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
39	Musk. W.	9	1 : 10	—	+	++	—	—	+	—	—	—	+	—
			1 : 25	—	—	+	—	—	+	+	+ schw.	—	+	+
			1 : 50	—	—	+	—	—	+	++	+ schw.	—	+	+
40	Musk. B.	12	1 : 10	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	+
			1 : 25	—	+	+	—	—	+	++	+ schw.	—	+	+
			1 : 50	—	—	+	—	—	+	++	+ schw.	—	+	++
41	Gefr. F.	2	1 : 10	+ schw.	+	+	—	—	+	++	+	—	+	+
			1 : 25	—	±	++	—	—	+	++	+	—	+	+
			1 : 50	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
42	Gefr. H.	2	1 : 10	+ schw.	+	+	—	—	+	++	+ schw.	—	+	+
			1 : 25	—	±	+	—	—	+	++	+ schw.	—	+	+
			1 : 50	—	—	+	—	—	+	++	—	—	+	++
43	Musk. H.	7	1 : 10	—	—	—	—	—	+	++	—	—	+	++
			1 : 25	—	—	—	—	—	+	++	—	—	+	++

In No. 36 ist die Beeinflussung durch das Serum zwar dadurch ersichtlich, daß die Einzelbakterien unbeweglich geworden sind. Erst das längere Einwirken des Serums hat, wie bei den zwei folgenden Proben 37 und 38, eine Kettenbildung herbeizuführen vermocht, ein Ergebnis, das mit den Angaben Mandelbaums im direkten Widerspruch steht. Bei No. 38 läßt sich eine Kettenbildung in der Verdünnung 1 : 25 leicht vermuten, da die Gruber-Widalsche Reaktion gerade in dieser Verdünnung einen stark positiven Charakter hat.

Eine Beeinflussung der Proben 39—42 hat bei fehlender Kettenbildung insofern stattgefunden, daß Agglutination oder Beeinträchtigung der Beweglichkeit aufgetreten ist.

Nur die Probe 43, bei der die Erkrankung 7 Jahre zurücklag, zeitigte ein völlig negatives Ergebnis, da sowohl die Gruber-Widalsche Reaktion wie Fadenreaktion versagte.

Im Anschluß hieran seien noch zwei Untersuchungen erwähnt, bei denen die Gruber-Widalsche Reaktion in der Verdünnung 1 : 100 nach 2 Stunden ein positives Resultat lieferte, bei denen nach Anstellung der Fadenreaktion nur in kleinen Verdünnungen ein annähernd normales

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wachstum zu erkennen war, in den höheren aber jedes Wachstum trotz mehrfacher Impfung vollständig ausblieb, eine Erscheinung, die wohl auf die bakterizide Eigenschaft des betreffenden Serums zurückzuführen ist.

Aus obigen Ausführungen geht hervor, daß bei den 45 Untersuchungen die Gruber-Widalsche Reaktion nur in einem Falle versagt hat, in dem auch die Fadenreaktion sich vollständig negativ erwies. Sonst ließ ihr Ausfall stets das frühere Ueberstehen einer Typhuserkrankung annehmen, wenn auch die Stärke der Reaktionen und ihr Eintritt erhebliche Schwankungen aufwiesen.

Die Fadenreaktion war als positiv mit Kettenbildung zu bezeichnen:

nach 4 Stunden	1:10 = 28 = 62,2 Proz.	33	37
	1:25 = 5 = 11,1 „		
nach 20 Stunden wurden noch positiv	1:10 = 1 = 2,2 „		
	1:25 = 2 = 4,4 „		
	1:50 = 1 = 2,2 „		
keine Kettenbildung	6 = 13,3 „		
kein Wachstum	2 = 4,4 „		
Mithin negativ			
nach 4 Stunden	12 = 26,6 „		
„ 20 „	8 = 17,7 „		

Was nun die Zeit des Eintritts der Reaktionen anbelangt, so lieferte die Gruber-Widalsche Reaktion in 25 Fällen = 55,5 Proz. bereits nach 2 Stunden ein positives Resultat, also 2 Stunden früher als der positive Ausfall bei der Fadenreaktion zu erwarten ist. Da aber nach 2 weiteren Stunden die Gruber-Widalsche Reaktion noch in 21 Fällen (siehe II. Hauptgruppe) positiv wurde bezw. den positiven Ausfall mit einiger Sicherheit erwarten ließ, so ergibt sich im ganzen ein positiver Ausfall nach 4 Stunden in 95,5 Proz. der Fälle gegen 73,4 Proz. bei der Fadenreaktion.

Da die Gruber-Widalsche Reaktion nur in einem Falle versagt hat, so tritt die Ueberlegenheit derselben der Fadenreaktion gegenüber zur Feststellung von abgelaufenen Typhusfällen deutlich hervor. Doch nicht nur aus dem Zahlennachweis der immerhin kleinen Zahl von Untersuchungen läßt sich dies folgern, sondern auch aus der Probe selbst. Die Beurteilung der Fadenreaktion ist eine äußerst schwierige, sehr viel schwieriger als die Beurteilung der Agglutinationsprobe mit der Lupe. Es sind so viel und sehr oft recht zweifelhafte Erscheinungen im mikroskopischen Bilde zu beurteilen, die sich nicht immer leicht und schnell beurteilen lassen, wie z. B. die Beeinflussung der Beweglichkeit der Bacillen, selbst die Feststellung der Kettenbildung macht häufig Schwierigkeiten, zumal bei geringer Beweglichkeit der Bakterien. Ist ausgesprochene Kettenbildung vorhanden, dann ist deren Beurteilung äußerst einfach und leicht. Anders aber, wenn nur wenig Ketten vorhanden sind und vor allem, wenn nur kleine Ketten sich gebildet haben. In den Fällen, in denen ich bei meinen Untersuchungsergebnissen „kleine Ketten“ als vorliegend angegeben habe, ist der Befund häufig so zweifelhaft, daß man vielleicht öfters mit der gleichen Berechtigung eine „Kettenbildung“ nicht als vorliegend erachten könnte. Der Wert der Methode verringert sich dadurch naturgemäß wesentlich.

Da es nicht angängig ist, nur eine einzige Verdünnung anzulegen, wie es Mandelbaum vorschreibt, so ist, was die Vereinfachung der Methode anbelangt, gegen die Ansetzung der Gruber-Widalschen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Reaktion durchaus nichts gewonnen. Dazu kommt noch, daß sämtliche Proben nur mikroskopisch im hängenden Tropfen untersucht werden können, was der Reaktion nicht zum Vorteil gereicht, da sie die übersichtliche makroskopische schnelle Orientierung, wie sie bei der Gruber-Widalschen Reaktion bequem möglich ist, vollständig vermissen läßt. Bei wenigen Fällen, insbesondere bei klinischen Instituten, mag dies als ein Nachteil nicht erscheinen, handelt es sich aber um Epidemieen und demgemäß um Massenuntersuchungen, so dürfte die Ausführung dieser Methode auf große Schwierigkeiten stoßen.

Bei genauer Betrachtung scheint ein gewisser Unterschied zu bestehen zwischen den Resultaten der beiden Hauptgruppen. In den meisten Proben der 1. Gruppe, bei denen also die Gruber-Widalsche Reaktion bereits nach 2 Stunden eingetreten ist, besteht eine Neigung, größere Ketten zu bilden, also auch ein sicheres positives Fadenreaktionsresultat zu liefern. Es trifft dies nicht in jedem Falle zu, doch ist es immerhin bemerkenswert, daß größere Ketten in der 2. Hauptgruppe weniger angetroffen werden.

Aus der Höhe der Gruber-Widalschen Reaktion läßt sich kein sicherer Schluß ziehen, ob bezw. wieweit in den Verdünnungen Kettenbildung auftreten wird. Es sind also die mannigfachsten Resultate erzielt: Mehrfach gehen Kettenbildung und Gruber-Widalsche Reaktion Hand in Hand (Probe 15, 16, 19 u. a.), selten werden Ketten angetroffen in Verdünnungen, in denen die Gruber-Widalsche Reaktion bereits negativ ist (Probe 9), in der überwiegenden Zahl der Fälle aber bleibt die Kettenbildung gegenüber der Häufchenbildung in den großen Verdünnungen zurück.

Gegenüber den Feststellungen Mandelbaums verdient besonders nochmals darauf aufmerksam gemacht zu werden, daß die Kettenbildung nicht nur innerhalb von 4 Stunden, sondern auch beträchtlich später auftreten kann, daß nicht nur hohe Konzentrationsgrade des Serums, sondern gelegentlich auch Verdünnungen bis 1:200 Ketten hervorzubringen vermögen, daß durch Hemmungserscheinungen gerade in hoher Serumskonzentration (1 : 10) die Kettenbildung ausbleiben, in größeren Verdünnungen dagegen auftreten kann, und schließlich, daß es wohl möglich ist, daß sich aus der Kettenbildung Agglutinationshaufen entwickeln können.

Wegen der beschriebenen Hemmungsmomente, die die Kettenbildung in konzentrierteren Lösungen des Serums verhindern können, ist es in jedem Falle erforderlich, mehrere Verdünnungen anzulegen, am zweckmäßigsten 1:10, 1:25 und 1:50.

Ueber die Beziehungen der Beweglichkeit und Unbeweglichkeit der Einzelbakterien und Ketten einerseits, sowie der Kettenbildung andererseits zueinander, welche von beiden Erscheinungen eine intensivere Wirkung des Serums voraussetzt, darüber können unsere Untersuchungen keine Aufklärungen schaffen, da die Resultate in dieser Beziehung zu schwankend, verschieden, zu widersprechend sind. Jedenfalls ist es nicht möglich, eine Gesetzmäßigkeit in diesen Erscheinungen aus unseren Untersuchungsergebnissen zu folgern.

Weiterhin ist noch zu beachten, daß durch die bakterizide Eigenschaft des Serums das Wachstum vollständig aus-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bleiben kann, was bei unseren Untersuchungen in 4,4 Proz. der Proben der Fall war.

Nach diesen Betrachtungen, sowie nach den Ergebnissen meiner Untersuchungen halte ich die Gruber-Widalsche Reaktion zwecks Feststellung von abgelaufenen Typhusfällen für zuverlässiger als die Mandelbaumsche Fadenreaktion.

Nachdruck verboten.

Ueber eine neue Methode zur Isolierung der Choleravibrionen aus den Faeces[1]).

[Aus dem Institut für Hygiene der Kgl. Universität Siena
Vorsteher: Prof. A. Sclavo.]

Von Dr. **D. Ottolenghi,** Oberassistenten.

Wenn man von den Fällen absieht, in welchen die Faeces den Choleravibrio so zahlreich enthalten, daß es leicht gelingt, ihn direkt, durch Anlegung von Agarplatten- oder Gelatine- oder Blutagarkulturen nach Dieudonné zu isolieren, so liegt kein Zweifel darüber vor, daß die empfehlenswerteste Methode zum Nachweise des Choleravibrios in den Faeces in der sogenannten Anreicherung in Peptonwasser und der darauffolgenden Verimpfung der im Peptonwasser erhaltenen Kultur auf Agar besteht.

Diesbezüglich ist jedoch hervorzuheben, daß das Peptonwasser, obwohl es sich für die Entwickelung der Choleravibrionen besonders eignet, doch auch für manche andere Bakterien der Faeces, und besonders für das Bacterium coli kein ungünstiges Nährsubstrat darstellt. Der Unterschied zwischen diesen Keimen und dem Choleravibrio besteht bekanntlich darin, daß letzterer gewöhnlich sich rascher entwickelt und sich besonders an der Oberfläche der Flüssigkeit ansammelt, so daß in einem bestimmten Moment gerade an der Oberfläche der Flüssigkeit die Choleravibrionen schon zahlreich, die übrigen Keime hingegen erst spärlich vorhanden sind, und man somit über ein Material verfügt, welches sich zur Besäung von Agar und der endgültigen Isolierung des Choleravibrios eignet.

Daraus ergibt sich aber die Notwendigkeit, die Kulturen in Peptonwasser häufig zu untersuchen, um die für Verimpfungen auf Agar günstige Zeit zu treffen, mit der Folge, daß, wenn die Vibrionen in den Faeces sehr spärlich vorhanden sind, oder aus irgendwelchen Gründen eine systematische und wiederholte Untersuchung der Peptonwasserkulturen nicht möglich ist, die Isolierung des Choleravibrio eine lange, mühsame und umständliche Arbeit darstellen kann.

Es erschien mir deshalb lohnend, nach einem anderen Anreicherungsmittel für den Choleravibrio zu suchen, welches eine größere Spezifizität besitzt als das Peptonwasser, und habe dieses Ziel auf verschiedenen Wegen zu erreichen versucht.

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl (Turin).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die ersten Versuche machte ich mit dem Saft der Gurken und der Melonen, deren Genuß beim Menschen sehr günstige Vorbedingungen für Cholerainfektion zu schaffen scheinen. Aus diesen Versuchen ergab sich tatsächlich, daß diese Säfte, wenn man sie nach der Neutralisierung mit 3-proz. $Na_2CO_3 + 10$ Proz. in Wasser versetzt, im Kochschen Kochtopf oder im Autoklaven sterilisiert, dann filtriert und schließlich nochmals sterilisiert, für die Entwickelung des Choleravibrios äußerst günstige Nährsubstrate darstellen. Vergleichende Versuche zeigten sogar, daß in diesen Säften, besonders im Melonensaft, der Choleravibrio sich rascher und üppiger als im Peptonwasser entwickelt. Die Entwickelung hört aber nach ziemlich kurzer Zeit, sobald die Reaktion des Nährsubstrates sauer wird, auf, wenn man nicht etwa diesen Uebelstand durch Zusatz einer gewissen Menge von $CaCO_3$ vorbeugt.

In den Säften beobachtet man bereits nach 24-stündiger Inkubation eine positive Nitrosoindolreaktion, welche beim Melonensaft sehr stark, beim Gurkensaft hingegen sehr schwach ist. Letzterer ist auch ein schlechterer Nährboden als ersterer.

In diesen Säften entwickeln sich aber auch andere Keime gut, so z. B. das B. coli, so daß die Säfte keine besonderen Vorteile gegenüber dem Peptonwasser darbieten.

Dagegen gab mir die Ochsengalle in dieser Hinsicht ausgezeichnete Resultate. Dieselbe stellt, nach Zusatz von 3 Proz. einer 10-proz. wässerigen Lösung von krystallisiertem Natriumkarbonat, und Sterilisierung im Autoklaven ein gutes Nährsubstrat für Choleravibrionen dar, während sie sich für die Entwickelung des Coli-Bacillus, des Paratyphusbacillus A und B, des Typhusbacillus, des Dysenteriebacillus (Kruse-Shigascher Typus) und der gewöhnlich in den normalen Faeces des Menschen vorhandenen Keimarten wenig oder gar nicht eignet.

So ergab sich aus vergleichenden Versuchen, bei welchen ich mit je 1 Oese einer 18 Stunden alten Bouillonkultur dieser verschiedenen Keime Peptonwasser und Galle besäte und durch Untersuchung im hängenden Tropfen und durch Herstellung gefärbter Präparate den Entwickelungsbeginn in den beiden Kulturböden bestimmte, folgendes: Die Choleravibrionen sind bereits nach 4—6-stündiger Inkubation meistens sowohl in den Präparaten aus Peptonwasser wie in denen aus Galle zahlreich nachweisbar; der Coli-Bacillus zeigt im Peptonwasser nach 6 Stunden eine reichliche Entwickelung, während er in der Galle selbst nach 24 Stunden eine äußerst spärliche Entwickelung aufweist; der Paratyphusbacillus B ist im Peptonwasser nach 6—7 Stunden reichlich, in der Galle nach 24 Stunden nicht sehr reichlich entwickelt; der Typhusbacillus, der Paratyphusbacillus A und der Dysenteriebacillus entwickeln sich in der Galle selbst nach 5-tägiger Inkubation nicht. Dagegen entwickelt sich der Vibrio Metschnikoffs, ebenso wie derjenige von Finkler und Prior, in der Galle mehr oder weniger ebenso so rasch wie im Peptonwasser.

Aus vergleichenden Kulturversuchen mit Peptonwasser und mit Galle, bei welchen Reinkulturen angewendet wurden, ergab sich, daß einige Cholerastämme sich ebensogut in dieser wie in jenem entwickelten, während für andere Stämme die Galle etwas weniger geeignet erschien, d. h. der durch die mikroskopische Untersuchung von frischen oder gefärbten Präparaten festgestellte Beginn der Entwickelung trat bei gewissen Stämmen in beiden Nährsubstraten zu gleicher Zeit, d. h.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nach derselben Inkubationsdauer im Thermostaten, bei anderen in der Galle einige Stunden später als im Peptonwasser ein. Es wurde eine Oese von Bouillonkulturen verschiedener Cholerastämme in Peptonwasser und Galle eingeimpft und dann nach verschiedenen Zeitabständen die Kulturen im hängenden Tropfen untersucht, und zwar mit folgendem Resultate:

	Es waren Choleravibrionen nachweisbar durch Untersuchung im hängenden Tropfen	
	im Peptonwasser	in der Galle
Barletta-Stamm	nach 4 Stunden	nach 4 Stunden
Asinara- „	„ 4 „	„ 4 „
Spinazzola- „ I	„ 4 „	„ 4 „
„ „ II	„ 4 „	„ 4 „
Saïgon- „	„ 9 „	„ 9 „
Stämme 16 und 18	„ 6 „	„ ca. 9 „
Stamm 69	„ 6 „	„ 6 „
Sassari-Stamm	„ 9 „	„ 7 „

Die Versuche mit Faeces, welchen ich Choleravibrionen beimengte, zeigten jedoch, daß die Isolierung dieses Keimes, auch wenn er sehr spärlich vorhanden ist, vermittels der Anreicherung in Galle leicht und sicher gelingt, und daß ferner bei Anwendung der Galle eine systematische und häufige Untersuchung nicht unbedingt erforderlich ist, da selbst 24—48 Stunden nach der Anlegung der Kulturen die Entwickelung der Choleravibrionen stets ungemein stärker als diejenige der übrigen in den Faeces vorhandenen Mikroorganismen ist.

Ich will diesbezüglich von meinen vielen Versuchen die alle übereinstimmende Resultate ergaben, zwei anführen.

1. Versuch. Es wurden normale Faeces mit Wasser zu einer ziemlich dünnen Emulsion verrührt. Zu 3 ccm dieser Emulsion wurde 1 ccm einer 18 Stunden alten Coli-Bacillen-Bouillonkultur, 1 ccm einer 18 Stunden alten Bouillonkultur von Paratyphusbacillen B und 1 ccm einer 18 Stunden alten Kultur von Choleravibrionen (Cholera No. 18) in Peptonwasser beigemengt. Vor diesem Gemisch wurde je eine Oese in mehrere Röhrchen mit Peptonwasser resp. Galle gesät.

Nach 7-stündigem Verweilen der Röhrchen im Thermostaten wurde zum erstenmal eine Entwickelung des Keimes in Peptonwasser und nach 8 Stunden in der Galle beobachtet. Aus sämtlichen Peptonwasser- und Gallekulturen wurden Strichkulturen auf Agar angelegt und beobachtet, daß in den mit dem Material aus dem Peptonwasser besäten Platten sich einige kleine Cholerakolonieen und daneben zahlreiche Kolonieen anderer Keime entwickelten, während in den Platten, auf welche aus den Gallekulturen verimpft worden war, sich mehrere große, isolierte Cholerakolonieen und äußerst spärliche Kolonieen anderer Keime entwickelten.

Es wurden ferner mit dem Material aus der 7 Stunden alten Peptonwasserkultur weitere Röhren mit Peptonwasser besät und nebst den Röhren mit Galle in den Thermostaten gestellt. Nach 30 Stunden vom Beginn des Versuches an wurden sowohl mit dem Material der Peptonwasserkulturen zweiter Passage, wie mit den Gallekulturen, welche keine Passage durchgemacht hatten, Agarplatten angelegt, und beobachtet, daß sowohl in den Agarplatten der ersten Reihe (aus Pepton-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wasser) wie in denjenigen der zweiten Reihe (aus der Galle) der Choleravibrio sich fast in Reinkultur entwickelte.

2. Versuch. Es wurden in einer Reihe von Röhrchen je 4 ccm einer wässerigen Emulsion normaler Faeces mit 1 ccm einer 20 Stunden alten Bouillon-Coli-Bacillenkultur und in einer weiteren Reihe von Röhrchen je 3 ccm der Faecesemulsion, 1 ccm der Coli-Bacillenkultur und 1 ccm einer 20 Stunden alten Bouillonkultur von Paratyphusbacillen B zusammengemischt.

Jedem dieser Röhrchen wurden 0,05 ccm einer 20 Stunden alten Bouillonkultur von Choleravibrionen (Cholera No. 18), oder 0,05 ccm einer 10-proz. oder 1-proz. Verdünnung derselben Kultur in destilliertem und sterilisiertem Wasser beigemengt.

Um dann in ziemlich annähernden Weise festzustellen, wie viele Choleravibrionen auf diese Weise in den Faecesemulsionen enthalten waren, wurden 0,05 ccm der Cholerakultur resp. ihrer 10- und 1-proz. Verdünnungen mit 5 ccm sterilen Wassers gemischt, und mit Bruchteilen der so erhaltenen Mischungen Agarplatten angelegt.

Die am nächsten Tage ausgeführte Zählung ergab folgendes:

Aus 1 ccm der 0,05 ccm der Cholerakultur enthaltenden Mischung entwickelten sich ungefähr 5 Millionen Kolonieen;

aus 1 ccm der 0,05 der 10-proz. Verdünnung der Cholerakultur enthaltenden Mischung entwickelten sich ungefähr 500000 Kolonieen;

aus 1 ccm der 0,05 ccm der 1-proz. Cholerakulturverdünnungen enthaltenden Mischung entwickelten sich ungefähr 50000 Kolonieen.

Aus jeder Faecesemulsion wurden Kulturen auf Galle angelegt, und zwar in der Weise daß eine gewisse Anzahl von 5 ccm Galle enthaltenden Röhrchen zum Teil mit 1 Oese[1]), zum Teil mit 3 Oesen und zum Teil mit 0,01 ccm der Faecesemulsionen besät wurden.

Die nach 20-stündigem Verweilen dieser Röhrchen im Thermostaten[2]) beobachteten Ergebnisse habe ich in folgender Tabelle (p. 373) zusammengestellt.

Es sei gleich bemerkt, daß die in diesem Fall angewendete Galle 0,1 Prom. KNO_3 enthielt, welches die Entwickelung der Choleravibrionen zu fördern scheint, und daß aus einigen Gallekulturen, und zwar auch aus solchen, die mit an Vibrionen weniger reichen Faeces besät waren, nach 54-stündigem Verweilen im Thermostaten auf Agarplatten verimpft wurde, wobei ganz ähnliche Resultate wie nach 20—30 Stunden beobachtet wurden, indem die nach einem so langen Verweilen im Thermostaten angelegten Plattenkulturen nicht reicher an Kolonieen anderer Keime waren.

Aus dem bisher Gesagten glaube ich schließen zu dürfen:

1) daß die Galle für den Choleravibrio ein Nährsubstrat vom Typus des Peptonwassers darstellt, im Vergleich zu welchem sie den Vorteil

1) Die Oese, welche benutzt wurde, entsprach etwa $^1/_{350}$ ccm.

2) Bereits nach 7—8 Stunden konnte in einigen Röhrchen durch Herstellung gefärbter Präparate und mikroskopischer Untersuchung derselben die Anwesenheit von, jedoch äußerst spärlichen, Vibrionen nachgewiesen werden. Auch in den Kulturen in Peptonwasser — jedoch in denen, die mit der an Vibrionen reichsten Emulsion angelegt worden waren — konnte man nach 6—7 Stunden einige Vibrionen beobachten; dieselben waren aber von einer solchen Unmenge anderer Keime begleitet, daß, wenn man aus diesen Kulturen eine Isolierung hätte vornehmen wollen, jedenfalls noch eine weitere Passage in Peptonwasser notwendig gewesen wäre.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In 5 ccm Faecesemulsion befinden sich			Zur Verimpfung auf Galle angewendete Menge von Faecesemulsion	Mikroskopischer Befund in den Gallekulturen [1])	Befund in den mit 1 Oese der Gallekultur angelegten Agarplatten [1])
von Choleravibrionenkultur	von Colibacillenkultur	von Paratyphusbacillen-B-Kultur			
0,05 ccm	1 ccm	—	1 Oese	zahlreiche Vibrionen	fast nur Choleravibrionenkolonieen, und zwar sehr zahlreich
dgl.	dgl.	—	3 Oesen	dgl.	dgl.
„	„	—	0,1 ccm	„	„
0,05 ccm der 10-proz. Verdünnung	„	—	1 Oese	„	„
dgl.	„	—	3 Oesen	„	„
„	„	—	0,1 ccm	„	„
0,05 ccm der 1-proz. Verdünnung	„	—	1 Oese	„ [2])	„
dgl.	„	—	3 Oesen	„ [2])	„
„	„	—	0,1 ccm	„	„
0,05 ccm	„	1 ccm	1 Oese	„	„
dgl.	„	dgl.	3 Oesen	„	„
„	„	„	0,1 ccm	„	„
0,05 ccm der 10-proz. Verdünnung	„	„	1 Oese	„	„
dgl.	„	„	3 Oesen	„	„
„	„	„	0,1 ccm	„	„
0,05 ccm der 1-proz. Verdünnung	„	„	1 Oese	„ [2])	„
dgl.	„	„	3 Oesen	„	„
„	„	„	0,1 ccm	„	„

aufweist, daß die gewöhnlich in den Faeces vorhandenen Keime und auch andere Keime, welche zuweilen in den Faeces vorkommen, sich entweder überhaupt nicht oder so spärlich entwickeln, daß die Isolierung der Choleravibrionen aus den aus den Faeces angelegten Kulturen in der Galle sehr leicht ist;

2) daß auch wenn die Choleravibrionen in den Faeces sehr spärlich sind, die Anreicherung in der Galle in ziemlich kurzer Zeit gute Resultate liefert. So fand ich beispielsweise bei dem Versuch 2 in der Galle, welche ich mit einem Gemisch von Faeces + Coli-Bacillen + Paratyphusbacillen B + 1-proz. Verdünnung von Choleravibrionenkultur besät hatte, d. h. (da 1 Oese = $^1/_{350}$ ccm war) in der Galle, in welche ich eine weniger als $^1/_{3000000}$ von 1 ccm vor Choleravibrionen-Bouillonkultur enthaltende Oese von Faeces geimpft hatte, nach 30 Stunden eine derartig starke Entwickelung der Choleravibrionen, daß ich

1) Der Kürze halber gebe ich hier keine vollständige Beschreibung des mikroskopischen Präparates und der Platten, da es genügt, zu wissen, ob die Vibrionen zahlreich waren und ob die Verimpfungen auf Agarplatten schon eine endgültige Isolierung des Vibrios gestatten.

2) In diesen Fällen war die Entwickelung des Vibrios nach 20 Stunden zweifelhaft, nach 30 positiv und reichlich.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daraus 10—12 Stunden später fast reine Agarkulturen erhalten konnte, welche schon genügten, um die vollständige Agglutinationsprobe und auch die Pfeiffersche Probe ausführen zu können;

3) daß durch die Anreicherung in Galle die Isolierung des Choleravibrios ziemlich rasch gelingt, und zwar auch, wenn dieser Keim mit einer äußerst großen Zahl von anderen Bakterien gemischt ist. So konnte ich bei dem Versuch 2 bereits nach 20 Stunden — und hätte es vielleicht schon früher gekonnt — die Verimpfung von der Galle auf Agar mit der Gewißheit ausführen, in letzterem die Choleravibrionen in Reinkultur zu erhalten, obwohl ich von einer Mischung (Faeces + Coli-Bacillen + Paratyphusbacillen B + 1-proz. Verdünnung einer Choleravibrionenkultur) ausgegangen war, bei welcher, abgesehen von den den Faeces eigenen Keimen, das Verhältnis zwischen der Menge der Choleravibrionenkultur und derjenigen der Coli-Bacillen resp. der Paratyphusbacillen = 1 : 10000 war;

4) bei der schwachen Entwickelung anderer Mikroorganismen in der Galle kann man auch ziemlich große Mengen von Faeces, z. B. 0,1 ccm, säen; dabei wird die Isolierung des Choleravibrios nicht erheblich erschwert, während man den Zweck erreicht, daß die Diagnose rascher gelingt oder auch bei äußerst vibrionenarmen Faeces gestellt werden kann.

Mir war es bisher nicht möglich, diese Resultate durch Versuche mit Faeces von Cholerakranken zu kontrollieren; ich glaube aber, daß die von mir berichteten Untersuchungen genügen, um zu beweisen, daß die Anwendung der Galle bei der bakteriologischen Diagnose der Cholera sehr wahrscheinlich gute Dienste leisten wird. Diese Methode scheint mir besonders in den Fällen angezeigt, in welchen die Choleravibrionen in den Faeces sehr spärlich vorhanden sind, wie es bei den Cholerarekonvaleszenten, den von der Cholera Geheilten und den chronischen Vibrionenträgern längere Zeit hindurch der Fall ist. Wenn hingegen die Faeces reich an Vibrionen sind, wird die Kultur in Peptonwasser zuweilen einige Stunden früher zur Diagnose führen, obwohl auch dann die Kultur in Galle, bei welcher die Entwickelung der Choleravibrionen selbst nach 24—48-stündigem Verweilen im Thermostaten nicht durch diejenige der Keime der Faeces überwältigt wird, dem Bakteriologen eine größere Freiheit im Arbeiten gestatten und ihm letzteres besonders in den Fällen erleichtert wird, wo er eine große Anzahl von Faecesproben untersuchen muß und dieselben ihm in Stunden gebracht werden, in welchen eine systematische Verfolgung der Kulturen in Peptonwasser große Unbequemlichkeiten mit sich bringen würde.

Hiermit will ich keineswegs behaupten, daß die Galle die übrigen Kulturmittel ersetzen soll; sie soll, nach meiner Ansicht, nur denselben beigereiht werden. In einzelnen Fällen wird sie wohl überflüssig sein; in anderen aber wird sie sich als sehr nützlich oder auch unentbehrlich erweisen, wenn die Resultate der Versuche, welche, wie ich hoffe, von anderer Seite ausgeführt werden, die meinigen bestätigen.

Was nun die Technik anbelangt, so ist dieselbe folgende: Die frische Ochsengalle wird durch Papier filtriert, dem Filtrat werden 3 Proz. einer

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

10-proz. Lösung von krystallisiertem Natriumkarbonat und 0,1 Proz. Kaliumnitrat beigemengt; von diesem Gemisch werden je 5 ccm auf verschiedene Glasröhrchen verteilt, welche dann 15—20 Minuten lang im Autoklaven bei $^1/_2$ Atm. sterilisiert werden[1]).

Es ist zweckmäßig, mit jeder Faecesprobe drei Röhrchen mit Galle zu infizieren, und zwar in das eine 1 Oese, in das zweite 3 Oesen und in das dritte 0,1 ccm des Materials einzuimpfen. Zu der Untersuchung der Kultur, welche in einigen Fällen bereits nach 4—9-, in anderen erst nach 20—30-stündigem Verweilen im Thermostaten positiv ausfällt, und zu den Verimpfungen auf Agar entnimmt man das betreffende Material zweckmäßiger von der Oberfläche der Kultur. Was die mikroskopische Untersuchung anbetrifft, so genügt im allgemeinen die Untersuchung im hängenden Tropfen, mit Hilfe einer guten Immersionsobjektivlinse; jedoch, besonders bei den ersten Proben, empfiehlt es sich, auch gefärbte Präparate herzustellen.

Da die Galle schlecht am Objektträger haftet und bei der Spülung mit Wasser leicht weggespült wird, kann man bei der Herstellung gefärbter Präparate folgendermaßen vorgehen:

1) Austrocknen des Tropfens auf dem Gläschen an der Luft; 2—5 Minuten langes Eintauchen des Gläschens in alkoholische Sublimatlösung (7,5-proz. $HgCl_2$ werden heiß in 100 ccm Wasser gelöst und dann mit 100 ccm absoluten Alkohols gemischt) oder auch in 1-prom. Lösung von Sublimat in Wasser.

2) Abspülen, wobei das mit einer Pinzette festgehaltene Gläschen in destilliertem Wasser hin und her bewegt wird.

3) Färbung, unter Erwärmen, mit Löfflers Methylenblaulösung oder mit einer wäßrig-alkoholischen Lösung von Gentianaviolett.

4) Abspülen wie bei 2, Trocknen, Balsam.

Es sei zum Schluß noch erwähnt, daß ich auch versucht habe, aus den Faeces oder aus mit Faeces besätem Peptonwasser Plattenkulturen auf Agar resp. Gelatine mit Zusatz von Galle anzulegen.

Es scheint, als ob man auf diesem Wege reinere Choleravibrionenkulturen züchten könne als auf gewöhnlichen Agar- resp. Gelatineplatten. Meine bisherigen diesbezüglichen Versuche sind jedoch nicht zahlreich genug, um daraus sichere Schlußfolgerungen ziehen zu können.

Andere Versuche mit Galle + verschiedenen Mengen Peptonwasser und mit ausschließlich mit Galle präpariertem Agar oder Gelatine haben keine sehr ermutigenden Resultate geliefert.

1) Auffallend ist dabei, daß in der so präparierten Galle der Choleravibrio eine ziemliche Menge Indol erzeugt, während der Coli-Bacillus, vielleicht auch infolge seiner schwachen Entwickelung auf diesem Nährsubstrat, selbst nach mehrtägiger Inkubation kein Indol erzeugt. Der Nachweis des Indols in den Gallenkulturen geschieht, da man nicht direkt die Kulturflüssigkeit selbst untersuchen kann, entweder in der Weise, daß man in die Röhrchen mit der Ehrlichschen Reaktionsflüssigkeit durchtränkte Streifen Filtrierpapier suspendiert, welche bei Entwickelung von Indol sich rot färben, oder nach dem von Porcher und Panisset empfohlenen Verfahren (C. B. Soc. Biologie. T. 66. 1909. p. 624), welches im wesentlichen darin besteht, daß man die Kultur mit Aether schüttelt, dem separierten Aether eine gewisse Menge einer alkoholischen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd und etwas Salzsäure zusetzt; in der Trennungszone zwischen diesen beiden Flüssigkeiten bildet sich ein rubinroter Ring.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Die Methodik der bakteriologischen Blutuntersuchung bei Infektionskrankheiten.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Ministeriums des Innern zu Astrachan.]

Von **N. Klodnitzky.**

Seitdem Pasteur 1863 die Sterilität des unter aseptischen Kautelen entnommenen Blutes feststellte, galt es bis vor kurzem als Tatsache, daß das Blut selbst bei schweren Infektionskrankheiten keine Mikroorganismen enthält. Für diese Anschauung schien der Umstand zu sprechen, daß Bakterien im Blute nur in schwersten Fällen zu finden waren, teils noch zu Lebzeiten, häufiger aber nach dem Tode. Demzufolge betrachtete man den positiven Bakterienbefund als ein schlimmes Zeichen, welches große, selbst Lebensgefahr bedeutete.

Die erfolgreichen Versuche des letzten Jahrzehntes, Typhusbacillen aus dem Blute Typhuskranker zu züchten, machten großes Aufsehen und riefen geradezu eine Umwälzung in unseren Anschauungen über den Verlauf der Infektionskrankheiten hervor. Dank den Untersuchungen deutscher, französischer, in den letzten 5 Jahren auch russischer Forscher bürgerte sich die bakteriologische Untersuchung nicht nur als eine exakte, wichtige und sogar unentbehrliche klinische Methode ein, sondern auch als eine Methode, die auf dem Gebiete der Erforschung des Wesens der biologischen Prozesse, die sich im Organismus bei Infektionen abspielen, viel verspricht. Leider fehlt in den Handbüchern der Bakteriologie das Kapitel über die Blutuntersuchungsmethoden.

Die vorliegende Arbeit hat nun die Absicht, diese Lücke auszufüllen.

Im weiteren wird lediglich von denjenigen Krankheiten die Rede sein, deren Erreger isoliert und in Reinkulturen gezüchtet worden sind. Vollständig umgangen werden Mikroorganismen, die durch direkte Besichtigung gefärbter Präparate oder im lebenden Zustande bestimmt werden können.

Ganz allmählich ohne Kampf hat an Stelle der früheren Anschauung über die Sterilität des Blutes als conditio sine qua non für die Existenz des Organismus die neue Ansicht, derzufolge jede Infektion von einer Bakterieneinwanderung in die Blutbahn begleitet und hervorgerufen wird. Hier können sie kürzere oder längere Zeit verweilen, später unter dem Einfluß der Schutzkräfte des Körpers, den Phagocyten, zugrunde gehen, oder sich im Gegenteil vermehren und eine allgemeine Infektion resp. einen tödlichen Ausgang bedingen. Nur ausnahmsweise findet die primäre Infektion durch direkte Einwanderung der Keime in den Blutkreislauf statt (z. B. bei der Pest durch Flohstiche), meistens dringen die Keime durch kleine Läsionen der Haut, Schleimhaut, vornehmlich aber der Mandeln oder des Verdauungstraktus ein. Von den Untersuchungen Radziewskys ausgehend, ist es denkbar, daß der größte Teil der aus dem lokalen Herde eingewanderten Bakterien den bakteriziden Kräften des Organismus, der Bakteriolyse, anheimfällt und nur widerstandsfähigere Individuen ihre Fortpflanzungsfähigkeit beibehalten.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:24 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dieser Zustand würde dem Stadium der Inkubation mit seinen mehr oder weniger ausgesprochenen Störungen des Allgemeinbefindens, Frösteln, Kopfschmerz, Mattigkeitsgefühl, entsprechen.

Die bakteriziden Eigenschaften des Organismus werden von den Körperzellen, besonders den Phagocyten, produziert, und nehmen selbst bei tödlichen Infektionen immer zu; daneben wächst aber auch die Lebensfähigkeit der Mikroben und ihr Vermögen, die ihnen schädlichen Produkte des Organismus zu neutralisieren — ihre Virulenz nimmt zu. Dieses Stadium entspräche dem zweiten und gefährlichsten Stadium der Krankheit — einerseits eine Vermehrung und Tod der Mikroben, andererseits eine Produktion von Schutzstoffen.

Die Immunität mag sich nun langsam oder in kurzer Zeit ausbilden, die Bakterien können aber eine Zeit lang, nachdem sie schon ihre Virulenz für den Körper und teils auch ihre Lebensfähigkeit eingebüßt haben, im Blutstrom zirkulieren und daselbst aufgefunden werden. Im entgegengesetzten Fall nimmt die bakterizide Kraft des Blutes ab und die Mikroben vermehren sich oft in bedeutendem Maße (sogenannte Septikämie). Unten kommen wir noch auf den Mechanismus der Infektion zu sprechen.

Das Gesagte bezieht sich auf die sogenannten septikämischen Bakterien, die durch ihre Vermehrung schädlich werden. Obwohl jede Infektion mit einer Intoxikation einhergeht, gibt es eine Gruppe pathogener Mikroorganismen, wie z. B. Tetanus- oder Diphtheriebacillen, bei denen die Wirkung der von den Bakterien am Orte der Infektion produzierten und von da aus ins Blut resorbierten Toxine im Vordergrund steht.

Die Terminologie der infektiösen Prozesse im Blute, die durch das Eindringen oder Verweilen von Bakterien in demselben bedingt sind, ist noch keineswegs wissenschaftlich und exakt, erfreut sich auch keiner allgemeinen Anerkennung. Da die ersten bakteriologischen Untersuchungen sich auf Wundinfektionen bezogen und in dieser Richtung am meisten gearbeitet wurde, fand auch hier die Nomenklatur ihren Ursprung. In der vorbakteriologischen Zeit wurden die schweren, oft tödlichen Komplikationen, die Verwundungen begleiteten, als die Folge einer Resorption von Zersetzungsprodukten der Wunde angesprochen (sogenannte Febris putrida der älteren Autoren).

Piorry war der erste, der im Jahre 1840 auf Grund klinischer und pathologisch-anatomischer Erscheinungen die verschiedenartigen Erkrankungen in Septikoémie und Pyohémie einteilte, je nachdem die Wunde nur Fäulnisprodukte resorbiert, oder die Krankheit durch Eiterübertritt ins Blut bedingt war. Die Ausdrücke Septikämie und Pyämie werden auch heute gebraucht, obwohl der Hauptanteil an der Infektion den pyogenen Bakterien zugesprochen wird.

Bei der Septikämie treten schwere Allgemeinerkrankungen, wie hohes Fieber, Kräftezerfall, Benommenheit, rascher Verlauf in den Vordergrund; die noch bei Lebzeiten eintretende Vermehrung der Bakterien in Blut und Organen kann auch nach dem Tode konstatiert werden. Die Pyämie wird durch längeren Verlauf und Bildung metastatischer Abscesse charakterisiert und gibt eine günstigere Prognose ab. Nach Canon unterscheidet sich die Pyämie von der Septikämie dadurch, daß bei ersterer ein periodischer Uebertritt von Eitererregern aus dem lokalen Herd in die Blutbahn stattfindet, wobei die Bakterien sich im Blute nicht vermehren, dasselbe viel mehr als Vehikel brauchen, um sich an

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einem anderen Orte niederzulassen und daselbst einen neuen Eiterherd zu provozieren.

Bei weiterem Studium stellte sich heraus, daß beide Formen als Blutinfektionen zu betrachten sind, da in beiden Fällen pathogene Mikroorganismen gezüchtet werden können und eine Kombination beider Fälle möglich ist, indem einerseits Allgemeinerscheinungen zutage treten, andererseits Eiterherde produziert werden.

Für diese Mischformen empfiehlt Gussbauer den Ausdruck Septikopyämie. Da aber dasselbe Krankheitsbild auch andere Bakterien abgeben können (z. B. Typhus- und Darmbacillen), so wurde von mehreren Autoren (Marmorek, Canon) vorgeschlagen, diese Bezeichnung den pyogenen Kokken zu reservieren.

In der letzten Zeit wird öfters der von Petruschky vorgeschlagene Ausdruck „Sepsis" für Erkrankungen, die durch Eiterkokken hervorgerufen werden, gebraucht. In vielen Publikationen wird jedoch dieser Ausdruck für verschiedene schwere Allgemeinerkrankungen, die von Bakterienvermehrung im Blute begleitet werden, gewählt (also im Sinne der früheren „Septikämie").

Aus dem Angeführten erhellt, daß die Bezeichnung „Septikämie" und „Pyämie" nicht wissenschaftlich ist und keine Vorstellung über die wirkliche Natur der sich abspielenden Prozesse geben. Falls sie noch im Gebrauch bleiben sollten, so wäre es nur für den alltäglichen klinischen Gebrauch, um die Bezeichnung der verschiedenen Zustände desselben Prozesses zu erleichern.

Die am meisten rationelle und das Wesen der Erscheinungen am richtigsten treffende Nomenklatur gehört Kocher und Tavel. Diese Forscher bezeichnen die sich im Blute abspielenden infektiösen Prozesse als Bakteriämie und Toxinämie. Bakteriämie wäre der Ausdruck für die Infektion des Blutes, Toxinämie für dessen Intoxikaton. Bei der Bakteriämie kreisen und vermehren sich die Bakterien im Blute, bei der Toxinämie findet ein Uebertritt von Stoffwechselproduktion der Bakterien in die Blutbahn statt, und zwar als Toxine, die in die Umgebung sezerniert werden — Ektotoxine — und als Endotoxine, die erst nach dem Tode der Bakterien unter dem Einflusse der bakteriziden Stoffe frei werden. Für die einzelnen Stadien der Infektion brauchen diese Autoren ausführlichere und schwerfälligere Ausdrücke, wie Staphylomycosis circumscripta, Staphylomycosis multiplex s. metastatica, staphylotaenica. Die französischen Bezeichnungen sind kürzer und genauer. Je nach der Art der Mikroben brauchen sie die Ausdrücke: Staphylococcie, Pneumococcie, Gonococcie, Colibacillose. Mir scheinen die Ausdrücke kontinuierliche, periodische oder intermittierende Bakteriämie passend. Der klinische Charakter konnte durch genauere Definition, wie septische Bakteriämie, periodische Bakteriämie mit Metastasen präzisiert werden (z. B. Typhhaemia, Septhaemia, Staphylococcaemia septica; continua, remittens, metastatica). Bakteriämieen von kurzer Dauer haben keine praktische Bedeutung, auch bietet deren Studium große Schwierigkeiten; sie können deshalb beiseite gelassen werden. Der bakteriämische Charakter gewisser Krankheiten, wie z. B. Typhus abdominalis in der ersten Krankheitswoche (Kayser, Conradi, Zeidler, Stühlern, Henken, Padlewsky), die croupöse Pneumonie, kann als festgestellt betrachtet werden. In anderen Fällen fehlt diese Regelmäßigkeit des Bakterienbefundes, oder die Dauer der Bakteriämie ist nicht lang genug, oder

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

endlich kann dieselbe nicht festgestellt werden, da der Erreger der in Frage stehenden Krankheit noch unbekannt ist. Allgemeine Infektionskrankheiten, die durch Protozoen hervorgerufen werden, gehören auch in den Rahmen des angeführten Schemas. Als eine Krankheit, bei der die Bakteriämie lange Zeit anhält, wäre die durch Trypanosomen hervorgerufene Schlafkrankheit zu nennen. In zweiter Linie käme die Malaria mit ihren regelmäßig sich wiederholenden Anfällen und den oft längere Zeit im Körper verweilenden Plasmodien; endlich käme noch die Syphilis mit ihren langen latenten Perioden vollständigen Wohlbefindens in Betracht.

Wodurch wird nun diese Mannigfaltigkeit bedingt? Weshalb verläuft die eine Infektion von vornherein als Bakteriämie, während in anderen Fällen dieselbe nur am Anfang auftritt und nur von kurzer Dauer ist?

Zur Aufklärung dieser Frage müssen die Reaktionsfähigkeit und der Empfänglichkeitsgrad des infizierten Organismus einerseits, der Charakter des infizierenden Agens andererseits in Betracht gezogen werden.

Die Infektion des Organismus und das Eindringen der Bakterien kommt bei Verletzungen der Haut oder der Schleimhäute zustande; die Frage, ob deren Eindringen durch die unverletzte Darmschleimhaut oder durch die Lungen (Einatmen) möglich ist, bleibt noch offen. Abgesehen von Fällen grober und ausgedehnter Läsion der Gewebe, ist es oft möglich, die primäre Eintrittspforte aufzufinden, da dieselbe zur Zeit, wo sich die Infektion dokumentiert, schon längst geheilt ist. Dies geschieht z. B. bei Insektenstichen, die als häufigste und gefährlichste Infektionsverbreiter angesehen werden müssen. Aus der Reaktion der Mandeln und Lymphdrüsen können später Schlüsse über die Eintrittspforte gezogen werden. Als Beispiel könnte jede Infektionskrankheit, jede experimentelle Infektion angeführt werden.

Scheinbar muß die für eine Infektion notwendige Zahl der Mikroben sehr groß sein, und nur bei sehr starker Virulenz und ausgesprochener Empfindlichkeit des Organismus kann die Infektion durch wenige Bakterien stattfinden. Als Beweis dafür möchte ich die von uns klargelegte Tatsache anführen, daß die Bakterien im Insektenleib (Wanzen) sich kolossal vermehren und die Infektion durch einmalige Einfuhr zahlreicher Mikroben zustande kommt. Dies Phänomen ist für die Intoxikation des Organismus und für die Herabsetzung von dessen bakterizider Kraft unentbehrlich und entspricht in allen Punkten den oben angeführten Beobachtungen Radziewskys. Bei künstlicher Infektion wird das Blut des infizierten Tieres schon nach $^1/_2$—1 Stunde nach stattgehabter Infektion toxisch. Ist das infektiöse Material wenig virulent und wird es in geringer Menge zugeführt, so tritt mit der Zeit eine durch lokale Vermehrung der Bakterien bedingte Abschwächung des Organismus ein, die den Boden für eine Allgemeininfektion vorbereitet. Dank den bakteriziden Kräften des Blutes, werden die Bakterien nicht nur in ihrer Entwickelung gehemmt, sondern auch abgetötet; an Stelle der alten Generationen treten aber immer neue[1]). Gleichzeitig kommt es in den lokalen Herden — zu solchen werden nicht selten die natürlichen Filter des Körpers, die Lymphdrüsen — zu einer Herabsetzung der Lebensfähigkeit

1) Siehe meine Mitteilung „Ueber die Bedeutung der bakteriologischen Blutuntersuchung der Septikämie.“ (Wratschebnaja Gaseta. 1907. No. 23.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Körperzellen, wodurch günstige Bedingungen für die Bakterienvermehrung geschaffen werden; daraus resultiert eine Erweiterung des Wirkungskreises der letzteren. Dazu können die Phagocyten als Bakterienverbreiter im Organismus beitragen. Auf diese Weise kann diese Schutzvorrichtung zum Verderben des Wirtes führen.

Der Unterschied im Verlaufe des Prozesses hängt von der Bakterienart ab. Die einen neigen zur allgemeinen Verbreitung, die anderen haben ihre Prädilektionsorgane und -gewebe. So führen z. B. die Staphylokokken seltener als die Streptokokken, trotz ihrer Verbreitung, im Organismus zu allgemeiner Infektion, am häufigsten kommt es zur Bildung von zirkumskripten Abscessen; dabei können kleine Blut- und Lymphgefäße zerstört werden und den Uebertritt der Keime in die Blutbahn ermöglichen. Die Streptokokken verbreiten sich mit Vorliebe an der Oberfläche, ohne die Gewebe zu zerstören, und führen häufiger als die Staphylokokken zu allgemeiner Infektion. Als Repräsentanten der echten Bakteriämie wären die Typhus- und Paratyphusbacillen zu nennen; lokale Infektion, sowie Eiterherde kommen nur selten unter dem Einfluß dieser Bakterien zustande. Dasselbe gilt auch für die Pneumokokken. Nochmals wäre zu betonen, daß selbst eine oberflächliche Infektion mit schwach virulenten Bakterien mit einer Bakteriämie einhergehen kann; diese Art von Bakteriämie ist nur von kurzer Dauer, dem Absterben der Bakterien folgt eine rasch verlaufende Toxinämie. In gewissen Fällen kommt es zu einer Lokalisation des Prozesses, wobei die Bakteriämie zurückgeht; dies beobachtete N. J. Spassokukotzkaja beim Erysipel. D. h. von vornherein kann eine Bakteriämie beobachtet und es können Streptokokken aus dem Blute gezüchtet werden; sobald aber die Zeichen eines lokalen Hauterysipels an den Tag treten (Wunden), verschwinden auch die Streptokokken aus dem Blut. Als allgemeine Regel kann dies aber nicht gelten, wie Beobachtungen bei der croupösen Pneumonie lehren. Scheinbar ist für eine längere Zeit anhaltende Bakteriämie auch eine längere Inkubationszeit erforderlich.

Die Gegenwart von Mikroben im Blut kann sehr leicht festgestellt werden. Zu diesem Zweck braucht man nur einen hängenden Tropfen aus dem zu untersuchenden Blute in einer indifferenten Flüssigkeit, wie Bouillon, besser noch Glyzerinbouillon herzustellen. Dann treten die entsprechenden Mikroben deutlich zutage und man kann sich von ihrer großen Anzahl überzeugen. Besonders frappant erscheint dieser Befund bei Rekonvaleszenten nach schweren Infektionskrankheiten. Weniger zuverlässig erscheint die Untersuchung an gefärbten, aus reinem Blut oder aus Blut mit Bouillon hergestellten Präparaten.

Bessere Resultate erhält man beim Gebrauch von lackfarbenem Blut (s. unten). Die Präparate werden durch Erhitzen fixiert; zum Färben bedient man sich am besten einer schwachen Lösung von Azur II (mit oder ohne Erwärmen), oder einer 1-proz. Methylenblaulösung. Schon beim Durchmustern des gefärbten Präparates und des hängenden Tropfens kann man sich von der Anwesenheit von Bakterien überzeugen. Auffallenderweise ist ihre Anzahl im Stadium der Apyrexie und in der Rekonvaleszenz eine kolossale. Nimmt man bei einem infektiösen (nicht sterbenden und nicht septischen) Kranken, einem Typhuskranken z. B., eine gewisse Menge von Blut und beschickt damit gewöhnliche Bouillon, so bleibt die Bakterienentwickelung aus und die Bouillon bleibt steril. Dies geschieht nicht deshalb, weil der Nährboden den Bskterien nicht

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zusagt, denn die Typhusbacillen wachsen ohne weiteres auf unserer Bouillon, und auch nicht deshalb, weil ihre Quantität im Blut zu gering war.

Abgesehen vom Stadium, das unmittelbar dem Tode vorausgeht, oder den Fällen, wo das Uebergewicht endgültig auf Seite der Bakterien bleibt, werden dieselben schon durch das bloße Verweilen im lebenden Blute abgeschwächt, denn dasselbe ist an und für sich ein wenig zusprechendes Medium für die Bakterienentwickelung.

Die Mehrzahl der Autoren ist der Ansicht, daß die Vermehrung der Bakterien im Organismus und im entnommenen Blute durch die bakterizide Kraft des Blutes und gewisse Eigenschaften des Serums gehemmt wird.

Bekanntlich ist die Theorie von Metschnikoff, nach der die Sterilität des Blutes durch die Tätigkeit der Phagocyten bedingt wird, die am meisten anerkannte und erfreut sich der größten Popularität. Außer den fixen Phagocyten, zu denen die Endothelien der Gefäße und der Organe gerechnet werden müssen, kommen die Mikrophagen — die vielkernigen neutrophilen Leukocyten — deren Aufgabe es ist, die Bakterien aufzufressen und die Mononukleären (Makrophagen), die die übrigen Fremdkörper in sich aufnehmen, in erster Linie in Betracht. Nach Metschnikoff verdankt die bakterizide Kraft des Blutes und des Serums außerhalb des Körpers ihre Entstehung dem Tode der Leukocyten (Phagolyse) und dem Freiwerden von fermentativen Stoffen, die im Protoplasma enthalten waren. Metschnikoff nennt diese Stoffe Cytase, und unterscheidet je nach der Leukocytenart eine Mikro- und Makrocytase.

Nach der Lehre einer anderen Schule, an deren Spitze Ehrlich steht, nehmen an der Produktion von Schutzstoffen sämtliche Zellen des Körpers teil. Bestimmte Körperzellen besitzen eine ausgesprochene Affinität zu bestimmten Bakterien und ihren Toxinen, die sie nach demselben Mechanismus, nach dem auch die Zellernährung stattfindet, an sich binden. Die Funktion verdanken die Zellen gewissen Atomgruppierungen, die Ehrlich Rezeptoren nennt (Ehrlichs Seitenkettentheorie). Nachdem die Rezeptoren ihre Affinität zu gewissen Nährstoffen oder Bakterien befriedigt haben, gehen sie für die Zelle verloren und an ihre Stelle werden von letzterer neue produziert. Diese Produktion folgt dem Weigertschen Gesetze, nach dem der Organismus seine Verluste mit einem Ueberschuß an neugebildeten Elementen zu ersetzen bestrebt ist (Bildung von Callus, Narben). Genau nach demselben Prinzip erzeugt die Zelle überschüssige Rezeptoren, die sich von derselben lösen und in die Blutbahn abgestoßen werden. So werden Bakterien und andere Stoffe, die ins Blut gelangen, nicht von der Zelle selbst aufgefangen, was zu deren Tod führen würde, sondern von frei zirkulierenden Rezeptoren, wobei die Zelle von den Toxinen verschont bleibt. Dies wäre nach Ehrlich das System, der Mechanismus der Immunitätserzeugung. Die bakterizide Kraft des Serums ist von der Gegenwart und dem Zusammenwirken von zwei Körpern abhängig: Der erste, der sogenannte Ambozeptor von Ehrlich (Fixateur von Metschnikoff, Substance sensibilisatrice Bordet) verträgt ein Erwärmen auf 55° C, der zweite ist äußerst labil, schon bei gewöhnlicher Temperatur leicht zerstörbar. Der Ambozeptor ist spezifisch, das Komplement oder das Alexin kann in jedem von einem beliebigen Tiere frisch gewonnenen Serum nachgewiesen werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beide Schulen nehmen gar keine Rücksicht auf die roten Blutkörperchen, was vollständig den geläufigen Vorstellungen über die physiologische Rolle der roten Blutkörperchen als Träger und Aufspeicherer von Sauerstoff entspricht. Indessen müssen sie schon wegen ihres Vermögens, Sauerstoff leicht abzugeben, eine hervorragende Rolle in sämtlichen Oxydationsprozessen, dieser Base der Lebens- und Schutzvorrichtungen des Organismus, spielen. Dabei befindet sich sowohl der in ihnen enthaltene, als auch der ausgeschiedene Sauerstoff in besonders aktivem Zustande. Selbst die Körperzellen, die immer sauerstoffbedürftig sind, bekommen den ihnen für ihr Leben fehlenden Sauerstoff samt anderen Nährstoffen nicht direkt von den Erythrocyten, sondern auf dem Wege der Osmose. Die ins Blut gelangenden Bakterien stoßen auf äußerst energische Sauerstoffträger, woraus eine Entwickelungshemmung oder eine Vernichtung derselben resultiert. Wahrscheinlich kommt dabei eines der oben beschriebenen Mittel zur Geltung. Und umgekehrt ist eine der Hauptbedingungen beim Unterliegen des Organismus die Beschränkung des Wirkungskreises der Erythrocyten.

Für die Richtigkeit dieser Ansicht spricht schon der Umstand, daß die Mehrzahl der Infektionskrankheiten mit einer bedeutenden Abnahme der Erythrocytenzahl einhergeht. Ihr Absterben wird nicht nur durch den Sauerstoffverlust, den die Bakterien verursachen, sondern auch durch die Oxydation der giftigen Produkte (der Toxine und Endotoxine) derselben hervorgerufen. Es ist leicht möglich, daß die Toxine unmittelbar lähmend auf die roten Blutkörperchen wirken, ganz analog der Wirkung des Schlangen- und Bienengiftes. Diese Gifte verdanken ihre Wirkung der Gegenwart des Lecithins, mit dem sie komplizierte Körper, die Lecithide, bilden. Cholesterin in Verbindung mit Lecithin bildet die Membran der Bakterien und sämtlicher lebender Zellen und schützt sie vor Zerstörung. Als Lipase zerstört dieses Gift die aus Lipoidkörpern bestehende Membran und die dabei ausgeschiedenen Fettsäuren lösen ihrerseits die Erythrocyten auf.

Aus dem Angeführten folgt, daß das Hauptbestreben bei der Züchtung der Kultur auf die Beschränkung oder das vollständige Eliminieren der Lebenstätigkeit der geformten Elemente des Blutes gerichtet sein muß, auch muß der Wirkungskreis des Blutplasmas beschränkt werden, gleichgültig, ob man nur die zwei oben beschriebenen wirksamen Prinzipien anerkennt oder die Wirkung des Serums auf Veränderungen des Eiweißes im kolloidalen Zustande zurückführt. Wird das entnommene Blut in eine relativ indifferente Flüssigkeit, wie Kochsalzlösung oder Bouillon, gebracht und übertrifft die Menge dieser Flüssigkeit diejenige des Blutes, so wird die Bildung von Gerinnseln verhindert und die roten und weißen Blutkörperchen bleiben 4—5 Tage lebensfähig. An die Erythrocyten werden keine weiteren Anforderungen von seiten der Körperzellen gestellt, die Mikroben werden aber in relativ ungünstige Bedingungen versetzt.

Dieses Ziel erreichten verschiedene Forscher auf verschiedenem Wege. Castellani empfiehlt eine starke Verdünnung des Blutes (2–5 ccm Blut auf 300 ccm Bouillon). Schottmüller impft das Blut auf geschmolzenen und bis auf 40° C erkalteten Agar und erreicht sozusagen eine Immobilisierung des Blutes. Conradi und Kayser impfen das Blut auf Galle, wobei es zu starker Hämolyse kommt. Schon 1904 bediente ich mich einer Aussaat des Blutes in destilliertem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wasser. Dabei kommt auch bekanntlich eine starke Erythrolyse und eine Bildung von lackfarbenem Blute zustande. Indem Conradi von dem häufigen Befund von Typhusbacillen in der Galle ausging, war ich bestrebt, die geformten Elemente des Blutes, hauptsächlich die Erythrocyten, abzutöten. Die Bakterien werden dabei wenig angegriffen, obwohl das destillierte Wasser als starkes Zellgift bekannt ist.

Die bakteriologische Blutuntersuchung kann in 3 Komponenten zerlegt werden: 1) Die Blutentnahme, 2) das Ueberimpfen auf verschiedene Nährböden, um Kulturen zu gewinnen, 3) das Bestimmen der Art der gewachsenen Bakterien. Wir richten unsere Aufmerksamkeit nur auf die zwei ersten Momente.

Um Verunreinigungen zu vermeiden und unsere Manipulationen für die Kranken unschädlich zu machen, muß in erster Linie die strengste Asepsis resp. Antisepsis beobachtet werden. Die Stelle, an der manipuliert wird, muß sorgfältig gereinigt werden. Die meisten Bakteriologen gebrauchen eine Bürste und Seife, Sublimat- oder Karbollösung und Alkohol-Aether. Ich entnehme das Blut nur der Vene und verfahre bei der Desinfektion der Haut folgendermaßen: Nachdem die Einstichstelle gewählt ist, wird die Haut mit einem nicht zu kleinen Wattebausch, der unmittelbar vor dem Gebrauch mit Aether benäßt wurde, gerieben; dabei darf der Wattebausch auf keinen Fall in den Händen des Operateurs gedrückt werden. Nachdem die Haut entfettet und der Schmutz entfernt ist, erreicht man durch nochmaliges energisches Abreiben der Operationsstelle eine endgültige und befriedigende Reinlichkeit der Haut[1]). Am besten wird sterile Watte in kleinen geschlossenen Paketen gebraucht. Uebrigens kann man sich auch, wie ich mehrmals zu beobachten Gelegenheit hatte, einfacher hygroskopischer Watte bedienen.

Die ersten Forscher entnahmen das Blut aus einem Stich in die Fingerkuppe oder einem Schnitt ins Ohrläppchen. Das hervorquellende Blut wurde mit der Platinöse aufgefangen oder mittels einer Kapillarröhre aufgesogen, oder endlich ließ man das Blut frei in offene, mit Nährflüssigkeit beschickte Röhrchen tropfen. Diese Methode ist unbequem, erstens, weil sie eine zu geringe Menge Blut liefert, zweitens, weil das hervorquellende Blut leicht durch Hautkokken oder Luftbakterien verunreinigt werden kann. Obwohl man diese Methode leicht entbehren kann, wird sie von gewissen Forschern zugelassen in Fällen, wo aus irgendeinem Grunde der Aderlaß nicht vorgenommen werden kann oder man überhaupt schonend vorgehen will (sogenanntes schonendes Verfahren). Hierher gehört auch das Abkratzen der Epidermis und die Skarifikation der Roseolen (Neufeld, Seemann). Beim Typhus abdominalis erzielt man häufig ganz befriedigende Resultate.

Petruschky bedient sich steriler Schröpfköpfe. Dieses Verfahren gewährt eine bedeutende Blutmenge, die Gefahr der Verunreinigung liegt aber auf der Hand. Uebrigens ist aber nach Neufeld eine Verunreinigung nicht zu befürchten, da das Blut die von außen gelangenden Bakterien tötet. Grawitz führt in die Vene eine sterile gerade Kanüle oder nach einem anderen Vorschlage eine hohle, unter einem Winkel

1) Die zu desinfizierende Hautstelle muß 4—5 cm lang und breit sein, ebenso groß muß auch der Wattebausch sein; es ist gar nicht notwendig, den zu reinigenden Raum auszudehnen, weil wir dabei Gefahr laufen, eine Verunreinigung durch Hautkokken hervorzurufen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gebogene Nadel ein. Eine Dosierung ist bei dieser Methode unmöglich, ein sofortiges Ueberimpfen auf Tiere ebenfalls.

Auf diese Nachteile stößt man bei der Venenpunktion nicht. Die Verletzung der Haut ist eine minimale, fast punktförmige, dementsprechend ist auch die Gefahr der Infektion auf ein Minimum reduziert. Die Schmerzhaftigkeit ist so gering, daß die meisten Patienten überhaupt nichts spüren. Das Angenehmste bei diesem Verfahren ist, daß man ohne Mühe eine beliebige Quantität Blut bekommen kann. Deshalb wird gegenwärtig dieses Verfahren am meisten angewendet und muß als das zweckmäßigste für die bakteriologische Untersuchung betrachtet werden.

Zum erstenmal wurde der Venenstich bei einem Osteomyelitiskranken von Garrè 1885 vorgenommen und der Staphylococcus aureus isoliert. Später wurde er von Canon, Sittmann und vielen anderen Forschern angewandt. Ich habe nun die Absicht, die Technik der Blutentnahme aus der Vene, so wie sie von mir ausgeübt wurde, zu beschreiben.

Vor allem muß bemerkt werden, daß sämtliche Gegenstände, Instrumente und Nährböden beizeiten vorbereitet werden müssen, damit es nicht zu Zeitverlust bei der Entleerung des Blutes aus der Spritze, zu Gerinnung, Verunreinigung oder anderen unliebsamen Vorgängen kommen kann. Wird der Arm oberhalb des Ellenbogens komprimiert, so treten an einem gut entwickelten und mageren Arm eines Erwachsenen unterhalb der Ellenbeuge die Vena mediana cephalica nach außen und die Vena mediana basilica nach innen verlaufend deutlich hervor; 3—4 Finger unterhalb der Ellenbeugen vereinigen sich beide Venen. Selbstverständlich sind verschiedene Abweichungen in deren Verlaufe möglich.

Unter der Vena basilica fühlt man die Pulsation der Arterie, die durch einen Sehnenstrang von ersterer getrennt ist. Um die Vene anschwellen zu lassen, kann der Arm oberhalb des Ellenbogengelenkes durch ein geknotetes Gummirohr oder eine Binde komprimiert werden; viel bequemer ist es, 3—4 Touren einer elastischen Binde anzulegen, wobei das Ende unter die Bindetouren untergebracht wird. Man läßt nun den Kranken die Hand zur Faust ballen, oder gibt ihm etwas in die Hand; der Arm muß in Streckstellung gehalten werden.

Bei Männern treten die Venen gewöhnlich deutlich hervor. Größere Schwierigkeiten bietet der Aderlaß bei Kindern und Frauen mit reichlichem Fettansatz; bei einiger Uebung kommt man aber immer zum Ziel. Bei heruntergekommenen Individuen ist die Gefäßfüllung eine unvollkommene und schwache. In derartigen Fällen ist es ratsam, die Binde unter höherem Druck anzulegen, dieselbe wieder loszubinden, um sie dann nochmals und definitiv unter geringerem Druck anzulegen.

Am besten bedient man sich bei der Blutentnahme einer Luerschen Spritze zu 2, 5, 10 und 20 ccm (die Spritzen deutscher Fabrikation sind nicht immer tadellos). Die Nadel darf kein zu enges Lumen besitzen; für größere Spritzen müssen passende, solide Nadeln gewählt werden, um Verzögerung beim Blutansaugen und eine daraus resultierende Gerinnung des Blutes zu vermeiden. Die Spritze kann im Krankenhause oder in der Wohnung des Patienten in einem geschlossenen Gefäße zwischen zwei Lagen Fließpapier durch 15 Minuten langes Auskochen sterilisiert werden. Die Nadel muß in ihrer ganzen Länge in hygro-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

skopische Watte dicht eingepackt werden, um einem Stumpfwerden vorzubeugen.

Die Spritzen können auch im Autoklaven bei 130—140° C sterilisiert werden, wobei man sie am besten in breite Reagenzröhrchen legt. Noch vor dem Anlegen der Binde wird auf der Spiritusflamme eine Pinzette bis zur Hälfte der Branchen durchgeglüht, darauf die Spiritusflamme ausgelöscht, die Pinzette dem Assistenten überreicht, der Operateur reinigt die gewählte Stelle am Arm (oder Bein) mit Aether. Die Spritze wird mit der noch heißen Pinzette aus dem Gefäße herausgenommen, die Nadel ebenfalls mit der Pinzette befestigt und von der Watte befreit. Die Nadel wird unter einem scharfen Winkel zur Längsachse des Gefäßes eingestochen, darauf die Spritze etwas gesenkt; ein bestimmtes Gefühl in den Fingern gibt an, daß die Nadel sich im Gefäß befindet. Davon kann man sich auch durch vorsichtige Bewegung des Stempels überzeugen. Manchmal ist der Druck in der komprimierten Vene so groß, daß das Blut von selbst in die Spritze fließt und den Stempel hebt, die Füllung der Spritze wird aber durch eine vorsichtige und gleichmäßige Bewegung des Stempels erreicht. Sobald die Spritze sich zu füllen beginnt, ist die Binde zu lösen; auf keinen Fall darf die Nadel früher entfernt werden, sonst kann es zu einer Venenschwellung und einem kleinen Bluterguß ins Unterhautzellgewebe kommen. Uebrigens haben beide Umstände keine große Bedeutung.

Die Stichstelle wird mit Watte bedeckt, die Haut mit Aether gereinigt; ein Verband ist entbehrlich. Da der Stichkanal schräg in der Haut verläuft, schließt sich die kleine Wunde sofort von selbst. Auch kann Collodium benutzt werden.

Bestimmte Mengen Blut werden sofort auf Nährböden gebracht. Der Rest wird in einem sterilen Gefäß mit zugeschliffenem Glaspfropfen, in einem Reagenzröhrchen oder einem Kolben behufs Serumgewinnung aufbewahrt. Um eine Gerinnung des Blutes im Kapillarraum zwischen Stempel und Zylinder zu verhindern, muß die Spritze sofort mit Wasser ausgewaschen werden; wird das Auswaschen unterlassen und kommt es zu einer Gerinnung, so kann die Spritze als verloren gelten [1]). Spritze, Binde und Pinzette werden ausgekocht.

Ein derart ausgeführter Aderlaß bietet gar keine Schwierigkeiten dar und ist für den Patienten vollkommen ungefährlich. Mir selbst wurde nicht weniger als 10mal Blut aus der Vene entnommen. Derselben Technik kann man sich auch beim Einverleiben von Medikamenten bedienen.

Wie gesagt, vermag das lebende Blut Bakterien abzutöten. Infolgedessen wird auch die Vitalität der im Blute kreisenden Bakterien herabgesetzt und deren Züchtung bedeutend erschwert [2]).

Auch außerhalb des Körpers erschwert der Kontakt der Bakterien mit dem Blute das Gewinnen von Kulturen. Deshalb kann der Vor-

1) Nachdem ich vergebens verschiedene Chemikalien zur Lösung des Gerinnsels versucht hatte, bediente ich mich mit Erfolg folgenden Verfahrens: In ein weites Reagenzröhrchen werden Sägespäne aus einem Glas, in dem Mäuse verweilt hatten, gebracht, darauf Wasser hinzugegossen und die Spritze in diesem Reagenzröhrchen untergebracht. Nach 7—15-tägigem Verweilen im Thermostaten beginnt der Stempel, dank der Bakterienarbeit, sich frei zu bewegen.

2) Eine Ausnahme bilden Fälle von Sepsis, wo die bakteriziden Kräfte schon reduziert sind. Auch lassen sich Eiterkokken leichter als andere Bakterien züchten, selbst im Anfangsstadium der Krankheit.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schlag von Canon, $^1/_4$—$^3/_4$ ccm des gewonnenen Blutes auf Schrägagar zu bringen, nicht als zweckmäßig betrachtet werden. Das von Petruschky angegebene Verfahren, Schalen mit erstarrtem Agar mit Blut zu beschicken, bietet dieselben Nachteile und außerdem die Gefahr einer Verunreinigung aus der Luft. Um die bakterizide Kraft des Blutes herabzusetzen, vermischten Sittmann und Buschke das Blut mit geschmolzenem Agar und gossen es auf Schalen aus. Nach Beobachtungen von Canon und Baumgarten wirkt der Druck des Agars in den Schalen ungünstig auf die Entwickelung der abgeschwächten Keime. Etwas später (1899) empfahl Neufeld eine starke Verdünnung des Blutes aus Roseolen. Auf diesem Prinzip basieren die wichtigsten Methoden von Castellani und Schottmüller. Castellani impfte 10—40 Tropfen Blut Typhuskranker in einen Erlenmeyerschen Kolben, der 300 ccm Bouillon enthielt, und erzielte damit eine starke Verdünnung desselben. Die Kulturzüchtung gelang ihm in 70—80 Proz. der Fälle. Nach Lemierre kann anstatt Bouillon Peptonwasser benutzt werden. Die Kolben werden bei 37° C gehalten, darauf gewöhnliche Nährböden mit dem Kolbeninhalte geimpft. Schottmüller empfiehlt, 20 ccm der Vene zu entnehmen und je 2—3 ccm in bis auf 45° C erkaltete Agarröhrchen zu bringen. Nach gründlichem Mischen wird der Inhalt in Petri-Schalen ausgegossen. Letztere werden bei 37° C gehalten und die in den nächsten 1—6 Tagen erscheinenden Kolonieen untersucht. Beim Typhus fallen die Befunde in 84 Proz. der Fälle positiv aus. Dieses Verfahren fand große Verbreitung. Nach Jochmann besteht der Hauptvorteil darin, daß die Kolonieen gezählt und die Bakterien aus dem Blute von Verunreinigungen unterschieden werden können; letztere wachsen an der Oberfläche. Ferner beobachteten Müller und Graefe folgendes: Schneidet man das beim Eintragen in Röhrchen oder beim Impfen der Bouillon sich bildende Gerinnsel auf und bestreicht damit eine Agaroberfläche, so wachsen nur Typhusbacillen, während die Umgebung frei von Bakterien bleibt. Das aus dem Blutgefäße entleerte und gerinnende Blut wirkt hemmend auf die Bakterienentwickelung. Indessen ist die bakterizide Kraft des zirkulierenden Blutes bedeutend schwächer. Um die Gerinnung des Blutes zu hemmen, und dessen Transport zu ermöglichen, empfehlen die Autoren, dem Blute Blutegelextrakt „Hirudin“ hinzuzufügen. Eppenstein und Korte versetzen gleiche Teile Blut mit 1-proz. sterilisierter Lösung von oxalsaurem Natrium (Oxalatblut), wobei sich ebenfalls Typhuskulturen entwickeln. Conradi (1904—06) machte sich zu diesem Zweck die Eigenschaft der Galle zunutze, neben starker Hämolyse das Blut vor Gerinnung zu schützen. Nach Conradi unterdrückt die Galle die bakterizide Kraft des Blutes. Der von ihm angegebene Nährboden besteht aus einem Gemisch von Ochsengalle mit 10 Proz. Pepton und 10 Proz. Glyzerin (90 ccm Galle, 10 Proz. Pepton, 10 Proz. Glyzerin). Der Nährboden wird im strömenden Dampfe sterilisiert. Das Blut wird in einem Verhältnis von 1 : 3 in Kölbchen vermischt.

Kayser vereinfachte diese Methode, da er das Hinzufügen von irgendwelchen Substanzen für überflüssig hält, und empfiehlt das Benutzen von reiner Galle: 5 ccm sterilisierter Galle auf 2,5 ccm Blut. Schon nach Ablauf von 12—16 Stunden beginnt eine reichliche Vermehrung der Typhusbacillen. Auf diese Weise erzielt man eine Anreicherung der Kultur; ein Urteil über die Zahl der im Blute kreisenden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bakterien gestattet aber die Methode nicht. Die Ergebnisse von Conradi und Kayser gaben den Anstoß zu weiteren zahlreichen Arbeiten, die vollkommen die Resultate dieser Autoren bestätigten. Das Verfahren muß als besonders wertvoll in den ersten Tagen der Krankheit, wenn die Widalsche Reaktion noch nicht entscheidend ist, gelten. Meyerstein versuchte zu eruieren, welche Bestandteile der Galle das Wachstum der Typhusbacillen im günstigen Sinne beeinflussen. Bei der Bearbeitung der Galle mit Alkohol-Aether fallen Kristalle der gallensauren Salze aus (sogenannte kristallinische Galle), die der Autor für den wirksamen Bestandteil der Galle bei der Anreicherung der Kultur hält[1]). Zu 2—4 ccm Blut fügt man 1—2 Messerspitzen kristallinischer Galle und stellt das Ganze in den Thermostaten. Streicht man das Gemisch auf Schalen von Conradi-Drigalski aus, so erzielt man ein üppiges Wachstum von Typhusbacillen. Roosen Runge benutzt mit Erfolg Agar + 1 Proz. glykoholsaures Natron. Indem auf Glyzerinagar die Typhuskolonieen erst nach 30 Stunden hervortreten, werden bei diesem Verfahren die Kolonieen schon nach 13—16 Stunden sichtbar; dabei sind sie viel größer und deutlicher, als bei anderen Methoden.

Die Hoffnung, Galle als Nährboden bei den meisten Infektionskrankheiten anzuwenden, hat sich nicht bewährt. An und für sich ist die Galle kein zusagender Nährboden für die Bakterien. Die einen Bakterien, wie z. B. der Choleravibrio und Pyocyaneus, gedeihen auf diesem Nährsubstrat, während Typhusbacillen und besonders Coli-Bacillen in ihrem Wachstum gehemmt werden; andere wieder gehen sehr bald zugrunde. Zu anderen Nährböden hinzugesetzt, wirkt die Galle bald günstig, bald hemmend auf das Wachstum der Kulturen. So gibt das mit Galle vermischte Blut Typhuskranker oder an Pest gefallener Tiere ein üppiges Wachstum. Meiner Ansicht nach steht diese Mannigfaltigkeit der Wirkung in Zusammenhang mit ihrem Vermögen, die geformten Elemente des Blutes aufzulösen. Pneumokokken werden unbedingt abgetötet. Setzt man zu 2 ccm einer Bouillonkultur von Pneumokokken 0,1—2 ccm Galle, so wird die Kultur bald hell und in kurzer Zeit steril (Neufeld). Nach Nicolle und Adilbey sind die Coccobacillen der Hühnercholera, die Rotz- und Pestbacillen weniger empfindlich für die bakteriolytische Wirkung der Galle, als die Pneumokokken; noch resistenter sind Choleravibrio, Typhus- und Coli-Bacillen, Milzbrandbacillen, Pyocyaneus und Bac. Friedländeri. Was die Strepto- und Staphylokokken anbetrifft, so werden sie auch im ungünstigen Sinne von der Galle beeinflußt. In Anbetracht dessen empfiehlt Wiens für die Züchtung der Pneumokokken aus dem Blute Pneumoniekranker 10 Proz. leicht alkalisches Peptonwasser mit 1 Proz. Dextrose. Die Flüssigkeit wird zu je 10 ccm in Reagenzröhrchen gefüllt und sterilisiert. Das Pepton hemmt die Blutgerinnung; 1 ccm Blut wird sorgfältig mit Peptonwasser geschüttelt und in den Thermostaten für 24—48 Stunden gestellt. Dann werden Teilchen des rötlich-braunen Niederschlages mit der Oese auf Agar übertragen. Nach 24 Stunden erscheinen charakteristische Kolonieen.

1) Die Galle wird mit tierischer Kohle bearbeitet und auf dem Wasserbade verdampft. Das Residuum wird in Alkohol aufgelöst, filtriert, zum Filtrat Aether im Ueberschuß hinzugefügt. Dabei bekommt man einen Brei glänzender, seidenartiger Kristalle. Das getrocknete Pulver kann benutzt werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1907 teilte ich im Russky Wratsch meine neue Methode der bakteriologischen Blutuntersuchung, deren ich mich in den Jahren 1904—1905 bediente, mit. Das Verfahren ist sehr einfach und besteht darin, daß eine bestimmte Menge Blut in ein Röhrchen mit destilliertem Wasser gebracht wird. Es kommt zu einer ausgesprochenen Hämolyse, zur Bildung von sogenanntem lackfarbenen Blut von prächtiger, rubinroter Farbe. Die Vitalität des Blutes wird vernichtet, damit verschwindet aber auch dessen bakterizide Kraft. Als das einzige ungünstige Moment müssen die osmotischen Erschütterungen, denen die Bakterien ausgesetzt sind, betrachtet werden. Uebrigens scheinen sie dieses leicht zu vertragen. Gewöhnlich nehme ich 0,5 ccm Blut auf 4,5 ccm Wasser, manchmal 1 ccm auf 4 ccm; gleichzeitig, teils als Kontrolle, machte ich eine Aussaat aus dem Blute in gewöhnliche oder Glyzerinbouillon, was mir deshalb von Wichtigkeit erschien, weil manchmal die Kultur nur auf Bouillon wächst. Ich gewann Kulturen von Typhusbacillen, von Pneumo-, Staphylo-, Strepto-, Gonokokken und von Tuberkelbacillen auf lackfarbenem Blute.

Dieses Verfahren wurde von Spassokukotzkaja, die das Blut bei chirurgischen Krankheiten untersuchte, angewendet; dieselbe fand, das Verfahren habe sogar Vorzüge vor anderen.

Die Methoden von Castellani, Schottmüller, Conradi-Kayser, Klotnitzky und Wiens beruhen alle auf dem Prinzip der Vermehrung der im Blute kreisenden Bakterien auf geeigneten Nährböden, d. h. alle diese Methoden bezwecken eine Anreicherung der Kultur. Auf Grund dieser Befunde kann kein zutreffender Schluß über die quantitative Seite der Bakteriämie gezogen werden. Diesem Bestreben wird durch das Verfahren von Schottmüller genügt, indem dasselbe die Möglichkeit gewährt, die Kolonieen zu zählen und auf diese Weise über die Quantität der im Blute befindlichen Bacillen zu urteilen. Andere Forscher benutzten eine Modifikation der Schottmüllerschen Methode.

Schüffner empfiehlt einen ziemlich komplizierten Nährboden: Gewöhnliche Bouillon + Galle āā, dazu, um das Kondensationswasser zu entfernen, $1^1/_2$ Proz. Gelatine, ferner 1 Proz. Nutrose, Pepton und Traubenzucker und $^1/_2$ Proz. Salz; die Reaktion muß schwach alkalisch sein. 2 ccm Blut werden in flüssig gemachten Galleagar (40° C) ausgegossen und mit diesem Gemisch Petri-Schalen beschickt. Die Resultate sind bessere als mit den Schottmüllerschen Schalen; auf letzteren vermehren sich die Bakterien oft gar nicht; auf den Schüffnerschen Schalen zeigten sich hingegen Typhuskolonieen schon nach 11 Stunden. W. B. Stühlern mischte 2 ccm Blut mit 5 ccm steriler Galle und goß sofort das Gemisch in 7 ccm verflüssigten und erkalteten Agar; von da aus kam das Gemisch in Petri-Schalen. Am besten benutzt man 3 Proz. Agar (3 Proz. Agar, 1 Proz. Pepton, Extr. Liebig, 0,5 Proz. Salz, schwach alkalische Reaktion), weil Agar von geringerer Konzentration schlecht erstarrt. Die Schalen werden bei 37° C gehalten, darauf die Kolonieen untersucht. Spassokukotzkaja mischte 1 ccm Blut mit 5 ccm destilliertem Wasser; im Laboratorium wurde das lackfarbene Blut mit 3 Proz. Agar vermischt und in Petri-Schalen ausgegossen. Sie bekam einen schönen, durchsichtig-rötlichen, leicht erstarrenden Nährboden. Nach 24 Stunden werden die Kolonieen gezählt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es muß bemerkt werden, daß man auf Grund der Kolonieenzählung nur eine annähernde Vorstellung über die quantitativen Verhältnisse des Falles gewinnt. Für das Wachstum der Bakterien bietet ein flüssiges Nährsubstrat immer größere Vorteile, als ein festes, weil die Bakterien, z. B. in Bouillon, allseitig von der Nährflüssigkeit umgeben sind, wodurch die von denselben sezernierten Stoffwechselprodukte sofort verdünnt werden. Die Bakterien können im Blut abgeschwächt sein und dann auf dem erstarrenden Nährboden nicht zur Entwickelung gelangen. Die Untauglichkeit des Nährbodens tritt in diesem Fall viel deutlicher zum Vorschein, als bei flüssigen. Teils dadurch erklärt sich der Umstand, daß während im hängenden Tropfen zahlreiche bewegliche Bakterien zu beobachten sind, dieselben auf Petri-Schalen nicht zur Entwickelung gelangen können. Nochmals möchten wir den Gang der bakteriologischen Blutuntersuchung wiederholen:

1) Auskochen der Spritze; 2) Untersuchung des Kranken, Lokaldiagnose; 3) Vorbereitung der Nährböden und der zur Untersuchung notwendigen Gegenstände; 4) Durchglühen der Pinzette; 5) Komprimieren des Armes oder Anlegen der elastischen Binde; 6) Vorbereiten der Spritze (wagrecht halten!) 7) der Aderlaß; es werden 2—5—10 ccm, selten mehr entnommen; 8) Aussaat des Blutes auf verschiedene Nährböden; auf jeden Fall muß auf gewöhnliche und Glyzerinbouillon und auf einen der oben genannten Nährböden geimpft werden, je nach Umständen; das übriggebliebene Blut wird in einem sterilen Gefäß, zwecks Serumgewinnung, aufbewahrt; 9) sofortige Untersuchung des Blutes am gefärbten Präparat, Ausstriche aus dem lackfarbenen Blut oder aus der Bouillon, hängender Tropfen; 10) Unterbringen der Nährböden in den Brutschrank bei 37° auf 24 Stunden und mehr; nach diesem Zeitpunkt 11) Kontrolle der gewachsenen Bakterien mittels Präparaten aus dem lackfarbenen Blut, der Galle und der Bouillon; 12) die Serumreaktion.

Seitdem der Aderlaß das Gemeingut weiter Aerztekreise geworden, sind die früheren klinischen Methoden bei der Diagnose von Infektionskrankheiten — die Punktion innerer Organe, besonders der Milz — vollständig verlassen werden. Das Blutaussaugen muß hier äußerst vorsichtig geschehen. Nachdem die Grenzen der Milz bestimmt sind, wird die Nadel durch den Intercostalraum eingeführt; die Lichtung der Nadel darf nicht zu weit sein, da die Wunde in dem wenig elastischen Milzgewebe sich nur unvollkommen schließt und leicht Veranlassung zu sekundären Blutungen geben könnte; ist die Lichtung zu eng, so können Gewebsteilchen die Nadel verstopfen: in diesem Fall ist es ratsam, den Stempel etwas zurückzuziehen; das Ansaugen muß langsam vor sich gehen. Nach der Punktion ist absolute Bettruhe und eine Eisblase auf die Milzgegend erforderlich. Kontraindiziert ist die Milzpunktion in folgenden Fällen: Hämophilie, hämorrhagische Diathese, vorgerücktes Alter, Unruhe, Kindesalter (Jancso). Ich möchte noch die oben angeführte Forderung der absoluten Bettruhe hinzufügen.

Es kann nicht dringend genug wiederholt und eingeschärft werden, daß man die Lagerung der Schwerkranken (Typhus) möglichst oft wechseln muß, um Komplikationen von seiten der Lunge vorzubeugen. Bei der Milzpunktion bietet die nachfolgende Blutung und die Möglichkeit der Infektion die größte Gefahr.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Punktion der Leber, die Achard und Phulpin bei agonisierenden Kranken vornahmen, um das Einschleppen von Bakterien in die Leber während der Agonie zu beweisen resp. auszuschließen, verdient als wissenschaftliche Methode keine Nachahmung. Auf Grund des Gesagten darf man sich vorstellten, daß ein so blutreiches Organ wie die Leber noch größere Gefahren bietet. Heutzutage kann mit Recht behauptet werden, daß die Punktion von Organen zu diagnostischen Zwecken vollständig verworfen ist.

Die bakteriologische Blutuntersuchung kann noch nach dem Tode vorgenommen werden. Am häufigsten wird die von Schottmüller angegebene, von Simmonds vervollkommnete Methode benutzt. Sie besteht darin, daß man bei der Autopsie den Herzbeutel eröffnet, die Oberfläche des rechten Vorhofs anbrennt und mit der Spritze 10—20 ccm Blut ansaugt, wobei ein Assistent den Vorhof zusammendrückt. Das Blut wird, wie üblich, untersucht.

Derartige Untersuchungen werden gewöhnlich bei der Sektion vorgenommen, letztere in der Mehrzahl der Fälle nicht vor 24 Stunden nach dem Tode, häufig auch später (gerichtliche Sektion etc.) ausgeführt. Bei einer in diesem Zeitraum rasch eintretenden Fäulnis — im Sommer und im heißen Klima schon nach 12 Stunden — sind die Ergebnisse der Untersuchung ganz unzulässig. In Anbetracht dessen empfiehlt Canon die Blutentnahme aus der Vorderarmvene. Nach diesem Autor bleibt das Blut in der V. mediana ca. 3 Tage frei von Fäulnisbakterien. Diese Behauptung basiert auf systematischen Untersuchungen des Leichenblutes. Canon hält es für angängig, selbst nach 3 Tagen den Ergebnissen der bakteriologischen Untersuchung zu trauen, besonders bei gerichtlichen Obduktionen.

Canon macht auf eine weitere Gefahr aufmerksam, nämlich auf das Eindringen von Bakterien aus den inneren Organen ins Herzblut. Er stützt sich hauptsächlich auf die Arbeiten von Achard und Phulpin, die in der Agonie ($^1/_4$—10 Stunden vor dem Tode) das Blut aus der Vorderarmvene und den Lebersaft, den sie mittels Punktion gewannen, untersuchten; nach dem Tode untersuchten sie das Herzblut, die Leber und die Milz. Bei der Septikämie fanden sie die gleichen Bakterien im peripherischen Blut, wie in der Leber; in 8 Fällen war das Venenblut frei von denselben, während sie in Organen zu finden waren. Die Autoren halten das Eindringen von Bakterien in innere Organe für eine agonale Erscheinung (phénomène agonique). Außerdem betonen viele Autoren das rasche Uebertreten von Bakterien aus inneren Organen ins Blut. Gewöhnlich findet man das Bacterium coli. An entgegengesetzten Meinungen fehlt es auch nicht. Auf Grund von 282 Blutuntersuchungen hält Slavyk das agonale Eindringen von Bakterien in der in den Kreislauf für außerordentlich selten, ja unwahrscheinlich. Die Verschiedenheit der Ansichten und die widersprechenden Resultate veranlaßten einige Forscher bei der Bewertung derselben größte Vorsicht zu empfehlen (Jochmann, Lexer, teils Lenhartz). Auf diese Ergebnisse könne man sich nur in dem Falle veranlassen, wenn sie mit allen übrigen Erscheinungen in Einklang stehen. Diese Verschiedenheit der Meinungen bei der postmortalen Blutuntersuchung steht, wahrscheinlich, in Zusammenhang teils mit dem Zeitraum, der nach dem Tode

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verlief, teils mit gewissen, rein technischen Mängeln, oder auch mit einer unrichtigen Deutung der post mortem stattgehabten Veränderungen. Einerseits fällt nach dem Tode die bakterizide Kraft des Blutes, und die Bakterien können sich nun in raschem Tempo vermehren. Andererseits behalten das Herz und die Eingeweide stundenlang eine relativ hohe Temperatur von 30—35°, die für die Bakterienentwickelung stets günstige Bedingungen schafft. Schottmüller, Simmonds, Lenhartz, Jochmann gelangten zu sehr wichtigen Schlüssen. Canon gehört zu den warmen Anhängern der postmortalen Untersuchung, verlangt aber die direkte Entnahme aus der Vene. Canon bedient sich folgender Methode: Nach gründlicher Desinfektion der Haut wird dieselbe bis zur Vene mit durchgeglühtem und noch heißem Messer gespalten, darauf die Vene mit einem nochmals durchgeglühten und schon erkalteten Messer eröffnet; das in der Tiefe der Wunde sich ansammelnde Blut wird mit einer großen Platinöse aufgefangen und auf Schrägagar übertragen. Canon nimmt jedesmal 4—6 Röhrchen Agar, in jedes 6—8 große Tropfen Blut.

Löw entblößt die Vene, komprimiert den Arm in der Nähe derselben und saugt in ein Kapillarröhrchen ca. 1 ccm Blut an. Slawyk entnimmt, nachdem er den Arm gründlich desinfiziert hat, mittels einer sterilen Spritze ca. 2 ccm Blut aus einer großen peripheren Vene.

Das Verfahren von Canon ist zu umständlich und zeitraubend, bietet infolgedessen auch die Gefahren einer Verunreinigung. Ich verfahre folgendermaßen: Nach Reinigung der Haut mit Alkoholäther wird dieselbe bis auf die Vene mit einem gewöhnlichen Messer gespalten; letztere vorsichtig gelöst, die Wandung mit glühendem Platinspatel angebrannt. Führt man nun in die Vene eine sterile Pasteursche Pipette ein, so kann eine bedeutende Menge Blut angesaugt werden; beim Drücken und Streichen der Schulter gelingt letzteres noch leichter.

Die postmortale bakteriologische Untersuchung des Blutes aus einer großen peripheren Vene hat einen um so größeren diagnostischen Wert, als dieselbe sogar mehrere Stunden nach dem Tode vorgenommen werden kann. In den Fällen, wo die Autopsie nicht ausgeführt werden kann, das Feststellen des Todes an einer septischen Erkrankung aber von Wichtigkeit erscheint, kann man auf die Punktion der Bauchorgane rekurrieren. Nachdem die Grenzen des Organs bestimmt sind, die Haut an der entsprechenden Stelle desinfiziert ist, wird mit einer dickwandigen Pasteurschen Pipette oder einer sterilen Spritze mit dicker Kanüle eingestochen. Wie die alltägliche Erfahrung im Laboratorium lehrt, gelingt es ohne Mühe, viele Stunden nach dem Tode eines Tieres an Septikämie eine Reinkultur zu züchten. Verunreinigungen müssen in der Mehrzahl der Fälle auf eine fehlerhafte Technik zurückgeführt werden.

Die Literatur über Untersuchungsmethoden des Blutes ist, außer den vereinzelten Publikationen kasuistischen Charakters, in folgenden Arbeiten zusammengefaßt:

1) Canon, Die Bakteriologie des Blutes bei Infektionskrankheiten. Jena 1905.
2) Klodnitzky, N. N., Eine neue Untersuchungsmethode des Blutes. (Russky Wratsch. 1907. No. 27, 28, 29.)
3) Spassokukotzkaja, N. J., Bakteriologische Untersuchung des Blutes bei chirurgischen Affektionen. [Diss.] St. Petersburg 1909.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Die Untersuchung der Wasser auf Typhusbacillen mit dem Komplementfixierungsverfahren.

[Hygienisches Institut der Königl. Universität Turin (Direktor: Prof. L. Pagliani).]

Von

Dr. **G. Volpino,** Prof. der Bakteriologie. und Dr. **E. Cler,** Assistenten am Hygien. Institut.

Bekanntlich ist das Fehlen eines elektiven Anreicherungsverfahrens für den Typhusbacillus der Grund, weshalb das Untersuchen der Wasser auf diesen Bacillus oft unüberwindlichen Schwierigkeiten begegnet, was dem erhaltenen Ergebnis jede Sicherheit fehlen läßt.

Doch sind in der letzten Zeit neue bakteriologische Isolations- und Kulturmethoden zur Isolierung des Typhusbacillus aus den Wassern vorgeschlagen worden, deren einige im Vergleich mit den früheren wirklich einen Fortschritt bedeuten.

Die modernen Methoden zur Absonderung und Züchtung des Typhusbacillus der Wasser beruhen entweder auf der vorherigen (mittels chemischer Stoffe bewirkten), Fällung der angeschwemmten Partikel, oder auf der Agglutination der typhogenen Bacillen vermittels eines hochwertigen, agglutinierenden Typhusserums.

So erzeugen z. B. Vallet und Schüder, indem sie 2 Litern Wasser in einem hohen Glaszylinder 10 ccm 7,75-proz. unterschwefliger Sodalösung und 20 ccm 10-proz. Bleinitratlösung beifügen, in diesem Wasser eine Fällung, durch die die verschiedenen Mikroorganismen und demnach auch die etwa vorhandenen Typhusbacillen auf den Boden des Behälters mitgeschleppt werden.

Ficker dagegen sucht dasselbe Ergebnis, d. h. also die Fällung des Typhusbacillus auf den Grund des Behälters, mit einer 10-proz. Sodakarbonatlösung und einer ebenfalls 10-proz. Eisensulfatlösung zu erreichen.

Der Niederschlag wird dann aufgenommen und in einer 25-proz. Kaliumtartratlösung aufgelöst.

Müller schließlich bedient sich des Liquor ferri oxychlorati anstatt der beiden von Ficker verwandten Lösungen.

Ueberall finden wir bei den von den verschiedenen Autoren vorgeschlagenen Methoden immer denselben Grundgedanken, nämlich das Wegschleppen der etwa im Wasser vorhandenen Keime mittels chemischer Fällung, womit dann die Diagnose durch die Anlage isolierter Kulturen auf Platten bedeutend erleichtert wird.

Gegen ein solches Verfahren lassen sich jedoch auch verschiedene Bedenken vorbringen.

So möchten wir vor allem darauf hinweisen, daß, selbst angenommen, daß es wirklich gelingt, den größten Teil der im Wasser vorhandenen Keime zu fällen und auf dem Boden des Behälters anzusammeln, doch danach immer noch nachzuweisen bleibt, ob dadurch die darauffolgende Isolierung und Züchtung des Typhusbacillus auch wirklich erleichtert ist. Tatsächlich wird sich in dem Niederschlag eine sehr große Anzahl der verschiedensten Keime vorfinden, wodurch die Absonderung des Typhusbacillus außerordentlich erschwert sein wird, und dies noch in weit höherem Maße, wenn, wie das fast immer bei Verunreinigung mit Kotmassen der Fall ist, das Wasser neben den Typhusbacillen auch Coli-Bacillen enthält.

Andererseits kann man darüber auch noch seine Zweifel haben, ob nämlich bei spärlichem Vorhandensein von Typhusbacillen im Wasser

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

diese immer oder zum größten Teil von der chemischen Fällung mitgeschleppt werden.

Eine spezifischere Fällung haben ohne jeden Zweifel die hochwertigen agglutinierenden Seren, wie bringen denn auch Altschüler, Schepilewski und andere gerade den Zusatz einer bestimmten Quantität Serum zur Hervorrufung der Agglutination der im Wasser vorhandenen Typhusbacillen in Vorschlag.

Daraufhin wird zentrifugiert; mit dem Niederschlag werden Isolierungskulturen angelegt. Aber auch da können wir keine Bürgschaft dafür übernehmen, daß bei Verwendung eines spezifischen agglutinierenden Serums wirklich die vorhandenen Typhusbacillen auf den Boden des Gefäßes gefällt werden. Sehen wir auch ganz von der in der Praxis wenig bedeutungsvollen Gegenwart der durch das Typhusserum nicht agglutinierbaren Typhusbacillen ab, so können wir doch auch noch daran zweifeln, daß beim Vorhandensein weniger Typhusbacillen die Agglutination wirklich vor sich geht. Auf der anderen Seite muß, wird erst diese Methode gewählt, notwendigerweise die zu untersuchende Wassermenge beschränkt sein.

Diese kritischen Betrachtungen über den gegenwärtigen Stand des Problems der Isolierung des Typhusbacillus aus den Wassern tun also dar, daß sich unserem Bemühen, auch die kleinste Verunreinigung des Wassers durch Typhusbacillen nachzuweisen, die größten Schwierigkeiten entgegenstellen und oft jedes Gelingen unmöglich ist.

Diese Betrachtungen lieferten uns den Ausgangspunkt für den Entwurf einer anderen, empfindlicheren und sichereren, auf die Diagnose des Typhusbacillus mittels der Fixierungsreaktion des Komplements gestützten Methode.

Damit wollen wir aber noch nicht behaupten, daß die biochemische diagnostische Methode an und für sich empfindlicher ist als das Isolierungs- und Züchtungsverfahren, denn viel eher läßt sich das Gegenteil voraussehen. Da jedoch die Untersuchung der verunreinigten Wasser auf Typhusbacillen mittelst Züchtung auf Schwierigkeiten stößt, die dem besonderen Zweck entspringen, die aber durch die biochemische Methode vermieden werden können, so wird letztere dadurch empfindlicher als erstere und findet gerade auf diesem Felde eine unserer Meinung nach äußerst angezeigte Verwendung. Nur um auf einen der Vorteile der biochemischen Untersuchung der Wasser auf Typhusbacillen zu sprechen zu kommen im Vergleich mit der Untersuchung mittels Kulturen, sei erwähnt, daß, wenn mit der von uns vorgeschlagenen und weiter unten beschriebenen Methode verfahren wird, zur biochemischen Untersuchung enorme Wassermengen verwandt werden können, während mit dem Züchtungsverfahren die Wassermengen notwendigerweise kleine sein müssen. Ein weiterer ganz bedeutender Vorteil liegt in der Möglichkeit, mit dem Komplementfixierungsverfahren mit Bestimmtheit die Typhusbacillen auch dann erkennen zu können, wenn sie mit großen Mengen heterogener Bakterien vermischt sind.

Sollte nun das Aufsuchen des Typhusbacillus in den Wassern mit dem Komplementfixierungsverfahren in die Praxis eintreten, so mußte vor allem festgestellt werden, welche Mindestmenge Typhusbacillen von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dem uns zur Verfügung stehenden Typhusserum mittels der Komplementfixierungsreaktion entdeckt werden konnte.

Wir haben ein hochwertiges agglutinierendes Typhusserum. Bevor es jedoch zu weiteren Versuchen herangezogen worden ist, wurde von vornherein festgestellt, wie weit es allein das Komplement zu fixieren vermochte, um bei den späteren Versuchen einen richtigen Begriff von seinem Werte zu haben bei der darauffolgenden Bestimmung der nicht fixierenden Maximaldosis.

Tabelle I.
Bestimmung der nicht fixierenden Maximaldosis des Typhusserums.

Serum	Meerschweinchenkomplement	Gewaschene und sensibilisierte Schafsblutkörperchen 5 Proz.	Ergebnis
2 Tropfen	1 Tropfen	1 ccm	+ komplett
4 „	1 „	1 „	+ „
6 „	1 „	1 „	+ „
8 „	1 „	1 „	+ teilweise
10 „	1 „	1 „	—

(Die Zeichen + bedeuten erfolgte Hämolyse, das Zeichen — das Fehlen jeder Hämolyse.)

Nachdem wir dann, wie aus Tabelle I ersichtlich ist, festgestellt hatten, daß unser Typhusserum an und für sich nicht imstande ist, das Komplement in Dosen unter 8 Tropfen zu fixieren, haben wir die Minimaldosis Typhusbacillen bestimmt, die von dem Serum vermittels der Komplementbindungsreaktion gefunden werden konnte.

Zu diesem Zweck haben wir in 100 ccm einer 0,85-proz. NaCl-Lösung eine Normalöse eingerührt (die einer 24-stündigen Typhusagarkultur entnommen und mit dem Czaplewskischen Skalaapparat derart bemessen worden war, daß die Menge sich so viel wie möglich 2 mg näherte). Bei dieser Verdünnung mußte also jeder Kubikzentimeter 0,02 mg und jeder $^1/_{10}$ ccm 0,002 mg enthalten. Mit ebendieser Lösung wurde folgende Voruntersuchung unternommen, die uns darüber aufklären sollte, ob und wie weit das zu verwendende Typhusantigen an und für sich imstande war, das Komplement zu binden.

Tabelle II.
Vorbestimmung des Typhusantigens.

Antigen	Meerschweinchenkomplement	Gewaschene und sensibilisierte Schafsblutkörperchen 5 Proz.	Ergebnis
0,2 ccm	1 Tropfen	1 ccm	+ komplett
0,4 „	1 „	1 „	+ „
0,6 „	1 „	1 „	+ „
0,8 „	1 „	1 „	+ „

Nachdem sich mit der stärksten Dosis 0,8 ccm keine Bindung eingestellt hatte, nahmen wir von jeder Fortsetzung Abstand, da der in der folgenden Tabelle III eingezeichnete Versuch uns bereits dargetan hatte, daß die zum Erhalt einer Bindung mit Typhusserum erforderliche Antigendosis bedeutend unter 0,8 ccm liegt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.
Fixierungsversuch bei Kombination typhischen Antigens mit spezifischem Serum.

Serum	Antigen	Komplement	Gewaschene und sensibilisierte Schafsblutkörperchen 5 Proz.	Ergebnis
2 Tropfen	0,1 ccm	1 Tropfen	1 ccm	—
2 „	0,2 „	1 „	1 „	—
2 „	0,4 „	1 „	1 „	—
2 „	0,6 „	1 „	1 „	—
— —	0,6 „	1 „	1 „	+ komplett
2 „	— „	1 „	1 „	+ „

(Anmerkung. In allen Röhrchen wurde die Flüssigkeit nach Zusatz des Antigens mit 0,85-proz. NaCl-Lösung auf dasselbe Volumen gebracht.)

Mit diesem Versuch haben wir demnach festgestellt, daß 2 Tropfen unseres Typhusserums imstande waren vermittels der Komplementbindungsreaktion 0,1 ccm einer aus 2 mg Typhusbacillen und 100 ccm NaCl-Lösung bestehenden Anschwemmung nachzuweisen und somit also 0,002 mg Typhusbacillen.

Zwecks Uebertragung dieses Versuchs aufs praktische Gebiet des Nachweises des Typhusbacillus in den Trinkwassern sind wir folgendermaßen vorgegangen.

Eine Normalöse (2 mg) wurde in 10 ccm Wasser eingerührt und diese Anschwemmung dann in eine 10 Liter Wasser fassende Flasche verbracht, worauf nach vorherigem Schütteln 1 Liter dieser zweiten Verdünnung abgenommen und noch 9mal verdünnt wurde. Mit anderen Worten haben wir eine 2 mg fassende Oese derart verdünnt, daß wir hernach auf 10 Liter Wasser 0,2 mg Bacillen und somit 0,02 mg auf 1 Liter besaßen.

Da es uns nun darum zu tun war festzustellen, ob man bei einer derartigen Verdünnung noch auf die gewöhnliche Art und Weise, d. h. mit den Kulturen auf den Isolierungsplatten den eingesäten Typhusbacillus nachweisen konnte, haben wir $^1/_{10}$ resp. 1 ccm dieses Wassers auf Drigalski-Conradi-Agarplatten gebracht, sowie auf Gelatineplatten.

Obgleich wir nun die größte Sorgfalt auf die Bestimmung der Kolonieen verwendet hatten, blieb das Ergebnis doch negativ. Auf den Agarplatten wurden wenige Kolonieen beobachtet; zwei davon waren verdächtig und wurden nachher als mobile, die Gelatine verflüssigende Bacillen erkannt.

Auf den Gelatineplatten dagegen war die Anzahl der Kolonieen bedeutend größer, sogar noch größer als die Kolonieenzahl unseres Leitungswassers. Das hängt sehr wahrscheinlich damit zusammen, daß der Behälter, in dem die Verdünnung hergestellt worden war, nicht sterilisiert worden ist. Das war nun an und für sich kein großer Mißstand, im Gegenteil, denn er brachte uns den in der Praxis obwaltenden Verhältnissen bedeutend näher, wenn nämlich die Isolierung des Typhusbacillus nicht nur durch die geringe Anzahl besagter Bacillen, sondern auch durch die Gegenwart einer bedeutenden Anzahl anderer Keime erschwert wird. Auch auf den Gelatineplatten ließ sich kein Typhusbacillus isolieren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es blieb also noch die biochemische Untersuchung zu erproben.

Zu diesem Zweck trachteten wir vor allem danach das Wasser durch Verdunstung zu konzentrieren, weshalb wir es entweder bei hoher Temperatur (90—98° C) oder bei niedrigerer Temperatur ungefähr (40° C) in einem besonderen Apparat (Serumschnelltrockner, System Weichardt) verdunsten ließen.

Der erstgenannten Methode könnte man eventuell vorwerfen, daß die zur Konzentration von 10 Liter Wasser in ein kleines Volumen erforderliche fortgesetzte hohe Temperatur ungünstig auf das Typhusantigen einwirken kann, wenngleich es bekannt ist, daß die bei der Bindungsreaktion einwirkenden bakterischen Antigene, zum großen Teil wenigstens fast 100° C ertragen, ohne sich zu verändern.

Auf jeden Fall aber war es vorteilhaft, die Empfindlichkeit dieser Methode nachzuweisen im Vergleich mit dem anderen Verfahren mittels Konzentration bei niederer Temperatur. Eben deshalb ließen wir in einer in einem bei 100° C gehaltenen Wasserbad stehenden Porzellankapsel die 10 Liter Wasser verdunsten und erhielten so nach 3 Tagen fortwährenden Verdunstens 10 ccm Wasser zusammen mit einer gewissen Menge festen Rückstandes. Der Flüssigkeit wurden dann 0,08 g NaCl hinzugefügt, worauf mit derselben trüben Flüssigkeit die nachfolgenden Versuche angestellt worden sind. Wir arbeiteten lieber mit dieser trüben Flüssigkeit, weil wir dachten, daß ein Teil des Antigens sich mit den Salzen niedergeschlagen haben und in sie eingetreten sein könnte.

Mit dieser Mischung, die außer Antigen noch eine bedeutende Menge unbekannter und heterogener Stoffe (Universalsalze, organische Substanzen etc.) enthalten mußte, mußten nun die hämolytische und antikomplementäre Eigenschaft bestimmt werden. Besonders was die letztere betrifft, ist ja bekannt, daß einige anorganische Stoffe (Ton-Kaolin etc.) für sich allein eine antikomplementäre Einwirkung auszuüben vermögen.

Sucht man nun in einem Wasser nach einem bakterischen Antigen, so müssen diese Eigenschaften des Extraktes immer durch einen Vorversuch bestimmt werden.

Im Nachstehenden sehen wir dann auch, wie der feste Rückstand in einigen Fällen ein schweres Hindernis bilden kann, entweder weil er seines großen Volumens wegen hinderlich ist oder aber Eigenschaften besitzt, die den Versuch ungünstig beeinflussen.

Diesen Mißständen kann jedoch mit der Dialysation des schon bedeutend konzentrierten Wassers abgeholfen werden, denn das Typhusantigen vermag die dialysierende Membran nicht zu durchdringen, wohl aber die gelösten Salze. Das absolute Fehlen von Salzen ist nicht zu befürchten, da ja nach beendigter Konzentration immer noch so viel NaCl hinzugefügt werden kann, wie eben erforderlich ist.

Zuweilen kann man es auch mit trüben, mehr oder weniger mit angeschwemmtem Material verunreinigten, erdigen oder andersartigen Wassern zu tun haben. Da ist es denn ratsam, vor Verwendung zuerst durch Papier zu filtrieren.

In unserem Fall haben wir zu einer derartigen Behandlung nicht zu greifen brauchen, weil unser Wasser nicht trübe und überdies sehr arm an Salzen war.

Die Prüfung der hämolytischen und antikomplementären Eigenschaft ist immer da ein Gebot der Klugheit, wo man eine Mischung unbekannter

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stoffe vor sich hat, was wir tatsächlich bezüglich unseres Extraktes, wie aus den beiden nachfolgenden Tabellen hervorgeht, getan haben.

Tabelle IV.

Extrakt	Gewaschene Schafsblutkörperchen 5 Proz.	Ergebnis
0,1 ccm	1 ccm	—
0,2 „	1 „	—
0,4 „	1 „	—
0,6 „	1 „	—
0,8 „	1 „	—
1,0 „	1 „	—

Tabelle V.

Extrakt	Meerschweinchenkomplement	Gewaschene und sensibilisierte Schafsblutkörperchen 5 Proz.	Ergebnis
0,1 ccm	1 Tropfen	1 ccm	+ komplett
0,2 „	1 „	1 „	+ „
0,4 „	1 „	1 „	+ „
0,6 „	1 „	1 „	+ „
0,8 „	1 „	1 „	+ „
1,0 „	1 „	1 „	+ „
1,2 „	1 „	1 „	+ teilweise
1,4 „	1 „	1 „	—
1,6 „	1 „	1 „	—

(+ = Hämolyse; — = Fehlen jeder Hämolyse.)

Infolge dieser Ergebnisse haben wir die Komplementbindungsprobe mit Extrakt + Typhusserum folgendermaßen vorgenommen:

Tabelle VI.

Extrakt	Typhusserum	Komplement	Gewaschene und sensibilisierte Schafsblutkörperchen	Ergebnis
0,1 ccm	2 Tropfen	1 Tropfen	1 ccm	+ fast kompl.
0,2 „	2 „	1 „	1 „	—
0,3 „	2 „	1 „	1 „	—
0,4 „	2 „	1 „	1 „	—
0,6 „	2 „	1 „	1 „	—
0,2 „	— —	1 „	1 „	+ komplett
—	2 „	1 „	1 „	+ „

Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, ist die vollständige Bindung des Komplements mit 0,2 ccm Wasserextrakt + 2 Tropfen Serum erhalten worden. Da wir nun zuvor festgestellt hatten, daß das Extrakt erst von der Dosis 1,2 ccm antikomplementäre Wirkung ausübt, während das Typhusserum das Komplement erst von der Dosis 8 Tropfen an bindet, ist die Spezifizität des Ergebnisses unzweifelhaft dargetan, auch dann, wenn man das Bedenken in Rechnung zieht, das auf einem anderen Gebiet, gelegentlich der Untersuchungen über das Antituberkulin, von Weil und Nakayama geäußert worden ist.

Diese beiden Autoren waren der Meinung, daß man eine Bindung haben könne nach Verwendung der Hälfte der bindenden Minimaldosis des Antigens + die Hälfte der Minimaldosis des Serums, woraus sich dann gerade eine bindende Minimaldosis ergäbe (Einwand: Summe der Effekte).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Da wir nun die Bindung mit Antigen- und Serumdosen erhalten haben, die weit unter der Hälfte der bindenden Minimaldosen stehen, so kann der vorzitierte Einwand die Spezifizität unserer Bindungsergebnisse in keiner Weise beeinträchtigen[1]).

Wie bereits erwähnt, wurde ein anderer Versuch gemacht mit Wasser, das bei einer 40° C nicht übersteigenden Temperatur in einem Weichardtschen Serumschnelltrockenapparat der Verdunstung übergeben, bis auf ein Volumen von ungefähr 100 ccm, und dann nochmals im Wasserbad bei 90° bis auf 10 ccm konzentriert wurde.

Behandelt wie vorstehend war übrigens auch das Endresultat dem vorhergehenden nicht sehr unähnlich, nur hatten wir da eine etwas höhere Bindung als die entsprechende der Tabelle IV auch nur bei Verwendung von 0,1 ccm Extrakt.

Damit bleibt also erwiesen, daß man nach Verdampfung mehrerer Liter mit einer Menge Typhusbacillen verunreinigten Wassers, die nicht mehr oder nur sehr schwer nachweisbar ist mittels Isolierung und Kultur der Bacillen, eben diesen Nachweis mit der Komplementbindungsreaktion zu erbringen vermag.

Die Schwierigkeiten des von uns verfolgten Verfahrens (Konzentration des Wassers auf ein kleines Volumen) können, wie vorauszusehen, in der Praxis darin bestehen, daß die Fällung der Salze qualitativ und quantitativ derart sein kann, daß dadurch die Reaktion mehr oder weniger hintangehalten wird. Erwähnt haben wir bereits, daß man in diesem Falle zur Vermeidung der Uebelstände zur Dialysation der teils schon konzentrierten Flüssigkeit schreiten kann.

Mit dieser Vornahme wird die Methode freilich etwas kompliziert.

Ein anderer Einwand läßt sich noch voraussehen, daß nämlich zuweilen die Verunreinigung mit Typhusbacillen derart klein sein kann, daß man dadurch genötigt ist, mit einem 10 Liter Wasser überschreitenden Wasserquantum die Versuche anzustellen.

---

1) Ein letzter Einwand könnte sich dann noch auf die Möglichkeit beziehen, daß nämlich mit dem Verfahren der Komplementbindung Gruppenreaktionen erhalten werden können, wie solche bei den Agglutininen und Präzipitinen eintreten. Angesichts dieser Einwendung haben wir das Typhusserum in der von uns verwandten Dosis (2 Tropfen) mit dickflüssigen, unter einander quantitativ gleichen Emulsionen von Typhusbacillus, Paratyphusbacillus B und Bacterium coli geprüft.

Typhus-serum	Typhus-bacillus	Paratyphus-bacillus	Bact. coli	Komplement	Sensib. Blut-körperch.	Ergebnis
2 Tropfen	0,1 ccm	—	—	1 Tropfen	1 ccm	—
2 „	0,2 „	—	—	1 „	1 „	—
2 „	0,4 „	—	—	1 „	1 „	—
2 „	—	0,1 ccm	—	1 „	1 „	+
2 „	—	0,2 „	—	1 „	1 „	+
2 „	—	0,4 „	—	1 „	1 „	+
2 „	—	—	0,1 ccm	1 „	1 „	+
2 „	—	—	0,2 „	1 „	1 „	+
2 „	—	—	0,4 „	1 „	1 „	+

Aus vorstehender Tabelle geht somit hervor, daß wir mit dem Typhusserum in den von uns verwendeten Dosen keinerlei Gruppenreaktion gehabt haben, die die Spezifizität unserer Ergebnisse zu beeinträchtigen vermöchte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus diesem Grunde glauben wir, daß in der Praxis nachstehende zweite von uns vorgeschlagene Methode weit nützlicher wäre, nämlich der Durchgang einer großen Menge des verdächtigen Wassers durch eine Chamberlandsche F-Kerze.

Hat man es mit Leitungswasser zu tun, so kann eine am Ende der Leitung angebrachte Kerze ihren Zweck erfüllen.

Auf diese Weise können selbst mehrere Hektoliter durchziehen, und die Kerze kann dazu z. B. 24 Stunden in Tätigkeit bleiben. Wie bekannt, können die Bakterien, und also auch die Typhusbacillen die Kerze nicht durchdringen, sondern bleiben an ihrer Oberfläche stecken.

Will man da nun zur Aufsuchung des Typhusantigens schreiten, so schabt man mit einem groben Bürstchen die Oberfläche der Kerze ab und nimmt das von der Kerze angesammelte Material in der kleinstmöglichen Lösung 0,85-proz. NaCl-Lösung auf. Mit dieser Anschwemmung schreitet man dann zur gewohnten Bindungsreaktion mit Typhusserum, nicht aber ohne vorher quantitativ die hämolytische und antikomplementäre Eigenschaft der zu prüfenden Anschwemmung bestimmt zu haben.

So glauben wir, wird die Untersuchung künftig in der Praxis keinerlei Schwierigkeit mehr bieten, denn während einerseits außergewöhnliche Anhäufungen heterogener Salze vermieden werden (die gelösten Salze der Wässer durchdringen die Kerze) kann man andererseits äußerst große Wassermengen zur Untersuchung heranziehen und so auch minimale Verunreinigungen nachweisen.

Tatsächlich läßt sich eine 0,002 mg pro $^1/_{10}$ ccm entsprechende Quantität Typhusbacillen, die, wie in unserem Fall, erforderlich ist, um eine positive Reaktion zu haben, auch bei außergewöhnlich geringer Verunreinigung des Wassers erhalten, wenn man zur Untersuchung über eine sehr große Menge Wasser verfügen kann. Dafür haben wir in vorstehendem die entsprechenden Anweisungen gegeben.

Einen anderen Vorteil im Vergleich zu dem Züchtungsverfahren bietet die von uns vorgeschlagene Methode insofern, als die Entwickelung der Kulturen des Typhusbacillus auf den Platten durch die gleichzeitige Entwickelung anderer Keime und besonders des B. coli beeinträchtigt wird, während die nach der Behandlung der Wasser — laut unseren Angaben — vorgenommene Bindungsreaktion in keiner Weise durch die gleichzeitige Gegenwart der gewöhnlichen, auch in großen Mengen vorhandenen Wasserkeime — auch B. coli inbegriffen — nachteilig beeinflußt wird.

Diese Betrachtungen veranlassen uns, die Komplementbindungsmethode als eine sichere und bequeme Methode anzuraten zur Entdeckung selbst minimalster Verunreinigung der Wässer mit Typhusbacillen. Diese Methode könnte beispielsweise alltäglich und mit größter Leichtigkeit in den Laboratorien zur hygienischen Ueberwachung bewohnter Zentren angewandt und so zur täglichen Kontrollmethode der Trinkwässer werden.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Inhalt.

Berké, Parasitologische Studien aus Kamerun. II., p. 326.
Bordet, J. et **Gengou, O.,** La coagglutination des globules rouges par les mélanges des anticorps et des antigènes albumineux, p. 330.
Dennemark, Ueber die Brauchbarkeit der Gruber-Widalschen Reaktion und der Fadenreaktion nach Mandelbaum zur Feststellung abgelaufener Typhusfälle, p. 354.
Hopffe, Anna, Ueber die Bakterienflora im Verdauungsschlauch von Cricetus frumentarius, unter besonderer Berücksichtigung der anaëroben Fäulniserreger, p. 289.
Horbaczewski, J., Eine Bemerkung zur Arbeit des Herrn Raubitschek: „Zur Kenntnis der Pathogenese der Pellagra", p. 317.
Klodnitzky, N., Die Methodik der bakteriologischen Blutuntersuchung bei Infektionskrankheiten, p. 376.
Ottolenghi, D., Ueber eine neue Methode zur Isolierung der Choleravibrionen aus den Faeces, p. 369.
Reymann, G. C. und **Nyman, Max,** Studien über Desinfektion, mit besonderem Hinblick auf die Methode von Krönig und Paul, p. 339.
Schilling, V., Ueber die feinere Morphologie der Kurloff-Körper des Meerschweinchens und ihre Aehnlichkeit mit Chlamydozoen-Einschlüssen, p. 318.
Verderame, Ph., Ueber die Infektion des Auges durch den Bacillus pyocyaneus, p. 302.
Volpino, G. und **Cler, E.,** Die Untersuchung der Wasser auf Typhusbacillen mit dem Komplementfixierungsverfahren, p. 392.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 58. Heft 5.
Ausgegeben am 1. Mai 1911.

Nachdruck verboten.

Zur Frage über die Umwandlung wichtiger biologischer Eigenschaften bei Bakterien (der Enteritisgruppe).

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor Geheimrat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Dr. med. **Heinrich Stromberg.**

Die sehr umfangreichen und eingehenden Untersuchungen von Sobernheim und Seligmann, die hauptsächlich das agglutinatorische Verhalten der Enteritisbakterien betrafen, führten sie zu wichtigen Ergebnissen, die für die Frage der Wandlungsfähigkeit oder Variabilität der Bakterien eine wesentliche Bedeutung haben. Weitere Nachforschungen in dieser Richtung erschienen daher wünschenswert, und auf die liebenswürdige Anregung von Herrn Geheimrat Prof. R. Pfeiffer hin unternahm ich eine Reihe von Versuchen, welche in der Hauptsache sich an die wichtigsten Ergebnisse von Sobernheim und Seligmann anlehnen und des besseren Verständnisses halber einen kurzen Ueberblick derselben erfordern.

Im allgemeinen konnten Sobernheim und Seligmann die bisherigen Anschauungen und Erfahrungen über das agglutinatorische Verhalten der Enteritisbakterien bestätigen. Die beiden Gruppen der Gärtner- und Paratyphus-B-Bacillen ließen sich mit Hilfe der Agglutination gut voneinander trennen, sie verhielten sich im großen und ganzen spezifisch. In beiden Enteritisgruppen mußten aber auch erhebliche Abweichungen festgestellt werden. So fanden sich in der Gärtner-Gruppe besonders zwei Kulturen: Rumfleth und Haustedt, die unser Interesse zu beanspruchen haben. Diese Stämme waren von verschiedenen Autoren mehrfach als echte Gärtner-Bacillen beschrieben worden; bei den Untersuchungen von Sobernheim und Seligmann jedoch imponierten sie anfangs als Sondertypen, im Laufe der Zeit aber konnte eine Rückbildung zum Gärtner-Typus beobachtet werden. Es gelang nun, aus der Ausgangskultur mittels des Plattenverfahrens eine Reihe von Tochterstämmen herauszuzüchten, die nach Agglutinierbarkeit und Agglutininbildung den verschiedensten Uebergangs- und Umwandlungsstufen entsprachen. Bei einigen der herausgezüchteten Tochterstämme konnten weitere Wandlungen konstatiert werden, die entweder in derselben Richtung einer Rückbildung zum Gärtner-Typus verliefen oder im Falle von wiedererlangten Gärtner-Eigenschaften in einem abermaligen Verluste der letzteren und in einer Rückkehr zum Sonderverhalten bestanden. Zugleich konnten bei diesen Kulturen geringfügige Abweichungen in ihrem kulturellen Verhalten festgestellt werden, doch handelte es sich hierbei nicht um prinzipielle, sondern lediglich um graduelle Unterschiede.

Fast noch wichtiger erscheinen die Befunde, die Sobernheim und Seligmann an einer Reihe von Paratyphus-B-Kulturen erheben konnten. Sie lassen sich kurz dahin charakterisieren, daß Para-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

typhusstämme, die zunächst in typischer und spezifischer Weise nur auf Paratyphusserum reagierten, unter Umständen eine starke Herabsetzung und fast völlige Einbuße dieser Reaktionsfähigkeit erlitten, dafür aber in entsprechendem Maße Agglutinierbarkeit für Gärtner-Sera erwarben. In einigen Fällen ließ sich dieser vom Paratyphus- zum Gärtner-Typus gerichtete Umwandlungsprozeß genauer verfolgen, indem sich hierbei herausstellte, daß das antigene Vermögen derartiger Stämme den Wandlungen der Agglutinierbarkeit nicht parallel geht; es wird anscheinend geschwächt, bewahrt aber in allen Phasen der Entwickelung reinen Paratyphuscharakter. Somit zeigten einige Stämme, die hauptsächlich oder sogar ausschließlich von Gärtner-Seris agglutiniert wurden, ihrerseits aber ein Serum mit mehr oder weniger deutlichen Paratyphus-B-Eigenschaften lieferten, die merkwürdige Erscheinung einer Diskrepanz zwischen Agglutininbindung und Agglutininbildung. Besonders beachtenswert erscheint hierbei der Umstand, daß in Verbindung mit der Wandlung der Agglutinierbarkeit Sobernheim und Seligmann bei den betreffenden Stämmen bestimmte Veränderungen des Kolonieentypus auf Agarplatten feststellen konnten.

Um den hier in Kürze geschilderten abweichenden Befunden auf die Spur zu kommen, waren somit folgende Wege einzuschlagen, die als Grundstock für die vorliegende Arbeit dienen können. Erstens mußte die agglutinatorische Durchprüfung einer größeren Anzahl von Gärtner- und Paratyphus-B-Stämmen an und für sich die gröberen Abweichungen aufdecken; feinere Veränderungen der Agglutinabilität im Laufe der Zeit konnten dann an Tochterstämmen der einen oder anderen Kultur, die mit Hilfe des Plattenverfahrens in eine Reihe von Kolonieen zerlegt worden wäre, gesucht werden. Zweitens mußte die Morphologie der Agarkolonieen bei allen Enteritisstämmen einer sorgfältigen, systematischen Untersuchung unterworfen werden, um die Fragen über die typische Kolonieenform für Gärtner- und Paratyphus-B-Bacillen, über die Konstanz oder Wandlungsfähigkeit dieser Formen, über die Möglichkeit des Auftretens mehrerer Formen in den sogenannten Mischkulturen und über den Zusammenhang zwischen diesen Kolonieenformen und dem agglutinatorischen Verhalten der betreffenden Kulturen entscheiden oder klären zu können.

Diesen zwei Hauptabschnitten schicke ich einige Bemerkungen über die Herkunft meiner Kulturen, über die Resultate der üblichen bakteriologischen Differenzierungsmethoden und über meine Immunisierungs- wie Agglutinationstechnik voran.

Einleitung.

Untersuchungsmaterial. Im ganzen verfügte ich über 21 Enteritisstämme, von denen 9 der Gärtner-Gruppe zugerechnet werden müssen, 12 dem Typus Paratyphus B angehören. Der Sammlung des Hygienischen Institutes zu Breslau entstammen folgende Kulturen:

Typus: Bacillus enteritidis Gärtner
1. Gärtner Alt
2. „ Grünthal
3. „ Günther
4. „ Halle
5. „ Abel.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Typus: Bacillus Paratyphus B
1. Paratyphus-B Breslau
2. „ Achard
3. „ Halle
4. „ Bock
5. „ Brion-Kayser
6. „ 121
7. „ 0
8. „ Sollmann
9. „ Station

Eine Gärtner-Kultur konnte ich aus einer verdächtigen Kalbsleber herauszüchten, daher die entsprechende Bezeichnung: Gärtner Kalbsleber.

Weitere 6 Kulturen verdanke ich der Liebenswürdigkeit Herrn Prof. Sobernheims[1]); sie wurden mir auf meine Bitte hin mit folgenden Anmerkungen zugesandt:

1. Aertryck 3b
2. Moskau 3a
3. Mäusetyphus 23
} ursprünglich reine Paratyphen, jetzt auf Gärtner-Serum reagierend
4. Rumfleth 4 = Gärtner
5. Rumfleth 5
6. Haustedt 5
} Sondertypen

Zu vergleichenden Agglutinationsversuchen wurden dann noch 2 Typhuskulturen und ein Paratyphus-A-Stamm, die auf der Untersuchungsstation des Hygienischen Institutes zu Breslau als Testobjekte dienten, herangezogen.

Alle Kulturen wurden zuerst mit Hilfe der üblichen bakteriologischen Methoden auf ihre Reinheit hin geprüft.

Morphologie. Morphologisch stellten meine Enteritisstämme gramnegative Stäbchen, die bald dicker, plumper und größer, bald dünner, schlanker und kleiner waren, vor. In einigen Kulturen fand man als Regel größere Bacillenverbände in Gestalt von kürzeren, auch längeren oder sogar sehr langen Fäden. Die Beweglichkeit im hängenden Tropfen war keineswegs gleichmäßig: bei einigen Stämmen fand man eine geringe pendelnde Bewegung, hin und wieder sah man ein Stäbchen sich rotieren oder schnellend vorbeischießen; bei anderen war die allgemeine Bewegung lebhafter ausgeprägt und mannigfaltiger, indem die Bacillen sich schlängelnd, rotierend, sich überschlagend über das Gesichtsfeld fortbewegten; bei einzelnen Kulturen endlich stellte der hängende Tropfen eine wogende und wimmelnde Bacillenmenge dar, in der man die Einzelheiten kaum zu unterscheiden vermochte.

Das Plattenverfahren ergab interessante Aufschlüsse über Form, Gestaltung und Aussehen der Agarkolonieen, auf deren nähere Beschreibung ich im zweiten Abschnitte dieser Arbeit eingehe. Hier sei nur gesagt, daß auch mit Hilfe dieser Methode die Reinheit der Kulturen festgestellt werden konnte.

Das kulturelle Verhalten der Gärtner- und Paratyphus-B-Bacillen war im allgemeinen ein so weit gleichmäßiges, daß sich auf Grund desselben keine Trennung dieser beiden Gruppen ermöglichen ließ; in Einzelheiten aber konnten doch gewisse Unterschiede gefunden werden, die vielfach die Beobachtungen Sobernheims und Selig-

1) Ich betrachte es als meine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Sobernheim an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

manns bestätigen. Diese Differenzen kamen vor allen Dingen bei der Lackmusmolke zum Ausdruck. Alle Paratyphus-B-Stämme ergaben nach 24 Stunden eine Rötung der Lackmusmolke, die dann am 2.—4. Tage wieder gebläut wurde. Nur bei wenigen Kulturen (Sollmann, Station) verzögerte sich der Blauumschlag bis 6—7 Tage oder die alkalische Verfärbung blieb auf der Stufe des Kontrollröhrchens stehen. Die Gärtner-Stämme zeigten manche Unregelmäßigkeiten; bei einigen trat überhaupt keine Rötung ein, indem zum 4. Tage die Lackmusmolke intensiv blau gefärbt wurde; bei anderen zeigte sich nach leichter Rötung in 3—5 Tagen ein deutlicher Blauumschlag, oder die Rötung erreichte auch einen intensiveren Grad, das Stadium der Säurebildung war dann meist verlängert und die alkalische Verfärbung ging nur auf die violette Farbe des Kontrollröhrchens zurück. Die angeblichen Sondertypen: Rumfleth 5 und Haustedt 5 zeigten die Abweichung, daß vom 1. Tage an eine Bläuung der Lackmusmolke eintrat.

Auf den anderen Differentialnährböden lassen sich nur geringfügige Unterschiede zwischen beiden Gruppen feststellen. So scheinen die Paratyphus-B-Bacillen in Traubenzuckeragar energischere Gasbildner zu sein, als die Gärtner-Stämme, wogegen die Sondertypen diesen Nährboden unverändert ließen. Auf Neutralrotagar zeigten die Paratyphus-B-Bacillen durchweg am ersten, meist am zweiten Tage schon starke Fluoreszenz; die Gärtner-Bacillen verhielten sich mehr ungleichmäßig, so daß neben Kulturen, die von Anfang an Fluoreszenz oder am zweiten Tage schon volle Reduktion des roten Farbstoffes aufwiesen, auch solche, die erst nach Tagen eine schwache Fluoreszierung erkennen ließen, vorkamen; von den Sondertypen ließ Rumfleth 5 das Neutralrot ganz unverändert.

Barsiekow-Tr. z. zeigte durchweg nach 24 Stunden Rötung und Gerinnung; Barsiekow-M. z. blieb unverändert oder wies eine leichte Bläuung meist nach 48 Stunden auf.

Die Veränderungen an der Milch wurden Tage und Wochen durch beobachtet. Im Laufe der ersten Woche, oft auch nach 14—16 Tagen hatte die Milch noch ihr gewöhnliches, flüssiges, unverändertes Aussehen. Von der zweiten Woche an begann aber die Milch transparent zu werden, indem zugleich eine leicht gelbliche Verfärbung auftrat: die vorher weißliche Deckfarbe ging in eine mehr gelbliche Lackfarbe über. Nach sehr langer Aufbewahrung nahm die Milch eine sirupartige, gelatinöse Beschaffenheit an, wie das auch Hübener angibt. Gerinnung soll niemals auftreten, und doch boten mir einige Kulturen das Bild einer derartigen Veränderung. Es handelte sich um die Gärtner-Stämme Kalbsleber und Halle und den Mäusetyphus-Stamm, die im Laufe der ersten Woche und Tage die Milch unverändert ließen. Am 9. Tage trat bei der Mäusetyphuskultur Gerinnung auf, am 47. bei dem Kalbsleberstamme, indem die Gerinnung in diesen Fällen als eine recht feste bezeichnet werden mußte; die dritte Kultur Gärtner Halle brachte die Milch nach 16 Tagen zu einer kephyrartigen, mehr flockigen Gerinnung. Wenn man bei den Kulturen Gärtner Halle und Mäusetyphus, die auch in agglutinatorischer Hinsicht manche Abweichungen darboten, ein atypisches und daher kein maßgebendes Verhalten annehmen könnte, so trifft das bei dem Stamm Kalbsleber keineswegs zu. Letzterer war frisch herausgezüchtet worden, er stellte in jeder Beziehung einen typischen und echten Gärtner-Bacillus vor, und dennoch führte er die Milch zur Gerinnung, allerdings erst nach 47 Tagen. Ob

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei durchgehends längerer Beobachtungszeit nicht auch andere ähnliche Ausnahmen unter den Vertretern der Enteritisgruppe vorgefunden werden könnten, erscheint gar nicht so unwahrscheinlich, zumal ich bei einer weiteren Gärtner-Kultur Abel, die bei der ersten Prüfung auch nach 56 Tagen die Milch noch unverändert gelassen hatte, bei einer zweiten länger fortgesetzten Prüfung nach 72 Tagen doch noch eine kephyrartige Gerinnung auftreten sah. Die Kontrollröhrchen mit Milch zeigten nach Ablauf dieses Zeitraumes keine derartige Veränderung, höchstens konnte man eine gewisse Verringerung und Eindickung durch Verdunstung konstatieren. Die drei Gärtner-Stämme (Halle, Abel und Kalbsleber), welche nach längerer Zeit die Milch zur Gerinnung brachten, zeigten in der Lackmusmolke nach 24 Stunden eine deutliche Rötung, ein verlängertes Stadium der Säurebildung und einen unvollkommenen Blauumschlag. Von den Sondertypen trat bei Rumfleth 5, der die Lackmusmolke sofort bläute, schon nach 9 Tagen volle Transparenz der Milch ein.

Immunisierungstechnik. Zur Anwendung kamen nur Kaninchen, im ganzen 24, die mit 16 Kulturen vorbehandelt wurden. Brauchbare Sera erhielt ich in 13 Fällen oder 54,2 Proz., indem auch hier zwei Sera durch rechtzeitige Probeblutentnahme gerettet wurden: die beiden Tiere gingen bei weiterer Immunisierung zugrunde. Das sind immerhin ganz erhebliche Verluste. Ausgenommen einen verunglückten Versuch subkutan zu spritzen, wurde in allen übrigen Fällen der intravenöse Weg gewählt. Da der vorläufigen Mitteilung Sobernheims und Seligmanns genauere Angaben fehlten, in der übrigen Literatur aber auch keine spezielleren Vorschriften zu finden waren, so schwankten in der ersten Zeit die Dosen der zu injizierenden Bacillen recht beträchtlich, zwischen der Initialdosis von $^1/_4$ Oese, die z. B. Kutscher angibt, und $^1/_{200}$ Oese, zu der die Furcht vor Verlusten greifen ließ. Die erste Injektion war meist verhängnisvoll und gingen 7 Tiere nach einer Dosis von $^1/_{30}$—$^1/_4$ Oese ein. Die Virulenz der Kultur und die Resistenz der Kaninchen sind nicht im voraus zu bestimmen, und habe ich große kräftige Tiere von über 2500 g Gewicht nach einer einmaligen Dosis von $^1/_{30}$ Oese verloren, wogegen nicht selten kleinere und schmächtigere Tiere, mit voraussichtlich schlechterer Prognose, bei anfänglichen Dosen von $^1/_4$ Oese glatt durchkamen. In Anbetracht dieser Verhältnisse blieb ich auf einem bestimmten Schema stehen: I. Dosis $^1/_{30}$ Oese, II. $^1/_{10}$, III. $^1/_4$, IV. $^1/_2$ und auch weiter, ähnlich demjenigen von Sobernheim und Seligmann. Bei weiteren Injektionen nahmen die überlebenden Kaninchen fast ausnahmslos recht bedeutend ab: $^1/_3$—$^2/_5$ von ihrem ursprünglichen Gewichte, das zwischen 2850 und 1550 g schwankte. Eine progressive Gewichtsabnahme bis zu $^1/_5$—$^1/_3$ vom Anfangsgewichte oder ein plötzlicher Gewichtsabsturz von 300—400 g im Zeitraume von wenigen Tagen zwischen zwei Impfungen hatte gewöhnlich einen letalen Ausgang zur Folge. Die Impfungen wurden anfangs in Abständen von 8—10 Tagen vorgenommen, dann aber folgte ich den Angaben von Sobernheim und Seligmann und verkürzte mir den Immunisierungszyklus durch nunmehr 5—6-tägige Pausen.

Zur Erlangung eines vollwertigen Serums genügten meist 3—4 Injektionen. Hierbei befolgte ich stets den Rat Sobernheims und Seligmanns, indem ich zur Erzielung eines starken Gärtner-Serums stets lebende Kulturen verwandte, die Paratyphus-B-Bacillen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aber vor der Injektion im Laufe einer Stunde bei 58—62° C abtötete. Ohne diese Frage im speziellen nachgeprüft zu haben, glaube ich auf Grund meiner Resultate im allgemeinen den Wert dieser Vorschrift bestätigen zu können. Die Eigenschaften der Kultur, wie die Reaktionsfähigkeit des Kaninchens spielen aber dabei auch eine große Rolle: neben Fällen, wo die geringsten Dosen ($^1/_{100}$ und $^1/_{30}$ Oese) bei zweimaliger Injektion gutwirkende Sera ergaben, stehen solche, wo eine viel intensivere Vorbehandlung zu weniger günstigen Resultaten führte. Nach einer gewissen Anzahl von Impfungen scheint eine Steigerung der Titerhöhe überhaupt nicht mehr zu gelingen, wie z. Tabelle I zeigt. Im Falle Aertryck zeigte das Serum nach der 4. Impfung einen Titer von 1:16000; der letztere blieb konstant während des ganzen Verlaufes der folgenden intensiven Immunisierung bis zu hohen Dosen hinauf, wie mit abgetöteten, so auch lebenden Kulturen. Eine ähnliche Erscheinung sehen wir im Falle Brion-Kayser a: Nach 4 Injektionen, wie nach 7-maliger Impfung blieb der Titer auf 1:4000 stehen.

Die meisten der von mir erzielten Sera hatten einen Titer von 1:4000. Der anfängliche Titer fiel gewöhnlich in den ersten Tagen und Wochen, stieg dann aber wieder an und erreichte oft höhere Zahlen. Wurde das Serum nicht gleich nach seiner Herstellung, die in einer Verdünnung mit 0,8-proz. NaCl 1:10 und in einem 10-proz. Zusatz von 5-proz. C_6H_5OH bestand, benutzt, so fand man oft nur eine Steigerung des Titers, der in drei Fällen den Grenzwert 1:16000 erreichte.

Tabelle I.

Immunisierung mit Aertryck (drittes Kaninchen No. 21, Gewicht 2850 g)	Immunisierung mit Bryon-Kayser a (Kaninchen No. 24, 2250 g Gewicht)
I. Dosis am 26. X. 1910 $^1/_{30}$ Oese abgetöteter Kultur	I. Dosis am 22. XI. 1910 $^1/_{30}$ Oese abgetöteter Kultur
II. Dosis am 1. XI. 1910 $^1/_{10}$ Oese abgetöteter Kultur	II. Dosis am 28. XI. 1910 $^1/_{10}$ Oese abgetöteter Kultur
III. Dosis am 5. XI. 1910 $^1/_4$ Oese abgetöteter Kultur	III. Dosis am 3. XII. 1910 $^1/_4$ Oese abgetöteter Kultur
IV. Dosis am 11. XI. 1910 $^1/_2$ Oese abgetöteter Kultur	IV. Dosis am 8. XII. 1910 $^1/_2$ Oese abgetöteter Kultur
am 16. XI. 1910 Probeblutentnahme Titer 1:4000, später **1:16000**	am 16. XII. 1910 Probeblutentnahme Titer **1:4000**
V. Dosis am 17. XI. 1910 1 Oese abgetöteter Kultur	V. Dosis am 16. XII. 1910 1 Oese abgetöteter Kultur
VI. Dosis am 24. XI. 1910 2 Oesen abgetöteter Kultur	VI. Dosis am 23. XII. 1910 2 Oesen abgetöteter Kultur
am 1. XII. 1910 Probeblutentnahme Titer **1:16000**	VII. Dosis am 30. XII. 1910 4 Oesen abgetöteter Kultur (letztere intraperitoneal)
VII. Dosis am 1. XII. 1910 $^1/_4$ Oese lebender Kultur	am 6. I. 1911 Entblutung Titer **1:4000**
VIII. Dosis am 8. XII. 1910 $^1/_2$ Oese lebender Kultur	
IX. Dosis am 16. XII. 1910 1 Oese lebender Kultur	
X. Dosis am 23. XII. 1910 2 Oesen lebender Kultur	
am 29. XII. 1910 Probeblutentnahme Titer **1:16000**	
XI. Dosis am 30. XII. 1910 4 Oesen lebender Kultur	

Vor der Immunisierung eines jeden Kaninchens wurde demselben aus der Ohrvene Blut entnommen, um das Verhalten des zur Impfung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gewählten Stammes dem normalen Kaninchenserum gegenüber zu bestimmen. Es wurde mit Verdünnungen $^1/_{10}$ oder $^1/_{20}$ angefangen: in 10 Fällen trat auch nicht eine Spur von Agglutination auf, in 5 Fällen war die letztere nur für die Lupe bei $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ sichtbar, in weiteren 5 Fällen stieg der Titer bis 1:40 und schließlich in zwei bis 1:80 an. Das Vorhandensein von Normalagglutininen hatte in meinen Versuchen keinen nachteiligen Einfluß auf die Erzeugung eines entsprechenden Immunserums.

Ausgenommen die ersten Fälle, wurde jede Kultur, die zur Immunisierung verwendet werden sollte behufs einer Reinigung über die Platte geschickt, wie das Sobernheim und Seligmann mit Recht verlangen.

Agglutinationstechnik. Es wurde die makroskopische Agglutinationsmethode, wie sie von R. Pfeiffer und Kolle angegeben worden, angewandt, indem in je 1 ccm der absteigenden Serumkonzentrationen je 1 Oese einer 20-stündigen Kultur gleichmäßig verrieben wurde. Jeder Agglutinationsreihe entsprach stets ein Kontrollröhrchen, in dem 1 Oese-Kultur nur in reiner 0,8-proz. NaCl-Lösung verrieben wurde. Die fertig hergestellten Röhrchen kamen dann für 2 Stunden in den Brutschrank bei 37° und verblieben später noch 16—20 Stunden bei Zimmertemperatur, wonach erst die Resultate endgültig aufgenommen wurden. Von der Bedeutung dieses Vorgehens konnte ich mich durch systematische Aufzeichnungen der Agglutinationsresultate 1) gleich nach dem Verreiben der Kulturen, 2) nach 2-stündigem Aufenthalte bei 37° und 3) nach Verlauf von 20 Stunden bei Zimmertemperatur überzeugen. Wenn auch in den beiden letzten Fällen die Resultate meistenteils miteinander übereinstimmten, so kamen doch auch manche augenfällige Unterschiede vor, wie z. B. unter anderem der Fall auf Tabelle II beweist.

Tabelle II.

Serum: Gärtner-Halle b, mit lebenden Kulturen gewonnen.

	Agglutinierte den homologen Stamm Gärtner-Halle b bei Verdünnung						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	K
Nach 2 Std. 37°	+	±	L	—	—	—	—
„ 20 „ Zimmertemper.	+++	+++	+++	+	±	L	—

Meine Beobachtungen wurden ganz besonders gestützt durch die Erfahrungen, welche Scheller seinerzeit über die Abweichungen im zeitlichen Verlaufe der Gruber-Widalschen Agglutinationsprobe sammeln konnte und 1905 im Centralbl. f. Bakt. veröffentlicht hat. Auch hatte mein Vorgehen den Vorteil, daß ich stets bei annähernd gleichen Bedingungen der Beleuchtung arbeitete, indem die am vorhergehenden Tage ausgeführten Agglutinationsreihen immer am Morgen des darauffolgenden Tages durchgemustert wurden.

Meine Bezeichnung der Agglutinationsresultate entspricht ungefähr der üblichen. Drei Kreuze (+++) bedeuten eine sehr starke Agglutination mit voller Ausflockung; zwei Kreuze (++) eine Agglutination, die mit bloßem Auge gut zu erkennen ist; ein Kreuz (+) deutet auf eine Agglutination, die mit bloßem Auge gerade noch einwandfrei erkennbar ist; ein unterstrichenes Kreuz (±) bezieht

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich auf jene Fälle, wo man mit bloßem Auge Spuren von Agglutination vermutet, jedoch zur vollen Ueberzeugung die Lupe zur Hand nehmen muß, um auf diese Weise eine deutliche Agglutination zu konstatieren; dort, wo mit unbewaffnetem Auge keine Spur von Agglutination mehr zu erkennen war, die Lupe aber dennoch das Vorhandensein einer solchen aufdeckte, stellte ich das Zeichen L. Außer den quantitativen Verhältnissen wurde auch die qualitative Seite der Agglutination berücksichtigt, und zwar ob sie mehr flockig oder körnig sei oder ob sie von diesen Typen abweiche und die Bezeichnung einer „atypischen" verdiene. Darunter verstehen Sobernheim und Seligmann eine unvollkommene Agglutination, bei der „eine Haufenbildung in trüber Zwischenflüssigkeit erfolgt". Die atypische Agglutination habe ich fast ausschließlich bei der Prüfung meiner Kulturen mit Immunseris, die von Bakterien einer anderen Gruppe stammten oder sonst irgendwelche Besonderheiten aufwiesen, beobachtet.

Mit der Zeit, als die Versuchsreihen an Umfang immer mehr zunahmen, wurde mir die Agglutinationstechnik vermittelst des Verreibens zu beschwerlich, so daß ich zu dem anderen Verfahren mit der Massenaufschwemmung ganzer Agarkulturen in NaCl-Lösung überging. Bei großen Agglutinationsreihen, besonders wo man viele Kulturen mit mehreren Seris durchzuprüfen hat, bedeutet die letztgenannte Methode eine große Erleichterung, und sage ich Herrn Prof. Scheller, der meine Aufmerksamkeit darauf lenkte, an dieser Stelle meinen besten Dank dafür. Je einem Schräg-Agar-Röhrchen mit 16—20-stündiger Kultur wurden erst 3 ccm 0,8-proz. NaCl-Lösung zugesetzt und mit der Platinöse die Kulturschicht in die Flüssigkeit abgestreift. Diese dicke Aufschwemmung wurde abgegossen, das Agarröhrchen mit NaCl-Lösung nachgespült, bis man im ganzen 15 ccm erhielt. Fast alle Kulturen ließen sich gleichmäßig und restlos aufschwemmen. Mit Hilfe von Pipetten wurde die Bakterienaufschwemmung in die Vidal-Röhrchen mit entsprechenden Serumverdünnungen verteilt.

I. Teil.

Das agglutinatorische Verhalten der Enteritisbakterien, das an 21 Kulturen im Laufe von über 7 Monaten systematisch nachgeprüft wurde, erwies sich in der Mehrzahl der Fälle typisch und den bisherigen Erfahrungen entsprechend, zeigte aber an einer Reihe von Stämmen interessante Abweichungen wie in agglutinabler, so auch in agglutinogener Hinsicht.

Zuerst soll das agglutinatorische Verhalten der Gärtner- und Paratyphus-B-Stämme typischen Seris gegenüber betrachtet werden.

Gärtner-Gruppe. Ein Gärtner-Serum stammte von der Untersuchungsstation des Hygienischen Institutes, 3 Sera wurden von mir mit den Stämmen Günther, Rumfleth 4 und Kalbsleber hergestellt. Die meisten Gärtner-Stämme wurden von diesen 4 Seris hoch und stark fast bis zur Titerhöhe agglutiniert, wie das Tabelle III vorführt, einige Gärtner-Kulturen verhielten sich aber stets abweichend: Gärtner Halle nämlich zeigte eine kümmerliche Mitagglutination, Rumfleth 5 und Haustedt 5 fielen sogar gänzlich aus. Die genannten Verhältnisse konnten zu wiederholten Malen immer wieder bestätigt werden. Ein kleiner Unterschied in der Wirkung der 4 Sera kann hervorgehoben werden, indem 3 von ihnen mehr multivalentwirkend waren und in gleichem Maße alle typischen Gärtner-Stämme beein-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.
Serum: Gärtner Kalbsleber, mit lebender Kultur gewonnen.

Kultur	Verdünnung						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
Gärtner Alt	+++	+++	++	+	L	—	—
„ Grünthal	+++	+++	+++	++	+	±	L
„ Günther	+++	+++	++	+	±	L	—
„ Rumfleth 4	+++	+++	+++	+++	++	++	+
„ Halle	±	L	—	—	—	—	—
„ Abel	+++	+++	+++	+++	++	+	L
„ Kalbsleber	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
„ Rumfleth 5	—	—	—	—	—	—	—
„ Haustedt 5	—	—	—	—	—	—	—
Paratyphus B Breslau	±	L	L	—	—	—	—
„ Achard	L	L	L	—	—	—	—
„ Aertryck	L	—	—	—	—	—	—
„ Halle	+	L	L	—	—	—	—
„ Bock	L	L	—	—	—	—	—
„ Brion-Kayser	L	L	L	—	—	—	—
„ 121	+	L	L	—	—	—	—
„ 0	L	L	L	—	—	—	—
„ Sollmann	±	L	L	—	—	—	—
„ Station	L	L	—	—	—	—	—
„ Moskau 3a	L	—	—	—	—	—	—
„ Mäusetyphus	L	—	—	—	—	—	—
Typhus Pichel	+	±	L	—	—	—	—
„ Seidel	+	+	±	—	—	—	—
Paratyphus A	—	—	—	—	—	—	—

flußten; ein Serum aber, das mit der Günther-Kultur gewonnen wurde, bevorzugte deutlich den homologen Stamm und die Kultur Grünthal, während die anderen Gärtner-Stämme in der Agglutination weiter

Tabelle IV.
Serum: Gärtner Günther, mit lebenden Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung				
	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400
Gärtner Alt	+	+	±	±	—
„ Grünthal	+++	+++	+++	++	+
„ Günther	+++	+++	+++	++	+
„ Rumfleth 4	++	+	+	—	—
„ Halle	—	—	—	—	—
„ Abel	±	±	L	—	—
„ Kalbsleber	++	+	±	—	—
„ Rumfleth 5	—	—	—	—	—
„ Haustedt 5	—	—	—	—	—

Paratyphus B, Typhus und Paratyphus A wird in diesen Verdünnungen gar nicht beeinflußt.

zurückblieben (Tabelle IV); immerhin war die Abgrenzung von der Paratyphus-B-Gruppe hier, wie auch in allen anderen Fällen, scharf und einwandsfrei. Die Paratyphus-B-Bacillen, die Typhus- und Paratyphus-A-Bacillen wurden von den Gärtner-Seris kümmerlich bis 1:200, selten bis 1:400 oder sogar 1:500 mitagglutiniert. Qualitativ handelte es sich meist um Verklumpung in Gestalt von Körnchen, die der Flüssigkeit beim Aufschütteln ein gleichmäßig gesprenkeltes Aussehen gaben. Neben der körnigen und feinkörnigen Beschaffenheit der agglutinierten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bakterien traf man auch eine Verklumpung mit mehr flockigem bis grobflockigem Charakter an; eine und dieselbe Kultur konnte bei Agglutination mit verschiedenen Seris bald mehr körnig, bald wieder mehr flockig agglutiniert werden. Von dem üblichen Bilde abweichend war das Aussehen der agglutinierten Bacillen beim Stamme Gärtner Alt: Beim Aufschütteln des Bodensatzes zerfiel der letztere in staubähnliche Wölkchen, in denen größere Krümel und Klümpchen schwammen; die Verklumpung war keine so gleichmäßige und in die Augen fallende, wie bei den übrigen Gärtner-Stämmen. Wie wir weiter unten sehen werden, konnte neben diesem qualitativ abweichenden Verhalten der agglutinablen Eigenschaften auch eine Abänderung des agglutinogenen Vermögens gefunden werden.

Paratyphus-B-Gruppe. Auch hier stammte ein Paratyphus-B-Serum von der Untersuchungsstation des Hygienischen Institutes, 3 Sera wurden von mir mit den Stämmen Achard, Halle und Brion-Kayser (a) hergestellt. Diese 4 Sera übten einen recht gleichmäßigen Einfluß auf alle Angehörigen der Paratyphus-B-Gruppe aus (Tabelle V, VI);

Tabelle V.

Serum: Paratyphus B Achard, mit abgetöteten Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
Gärtner Alt	±	—	—	—	—	—	—
„ Grünthal	—	—	—	—	—	—	—
„ Günther	+++	++	±	—	—	—	—
„ Rumfleth 4	—	—	—	—	—	—	—
„ Halle	±	—	—	—	—	—	—
„ Abel	—	—	—	—	—	—	—
„ Kalbsleber	—	—	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 5	—	—	—	—	—	—	—
„ Haustedt 5	—	—	—	—	—	—	—
Paratyphus B Breslau	+++	+++	+++	++	±	—	—
„ „ Achard	+++	+++	+++	+++	++	+	L
„ „ Aertryck	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Halle	+++	+++	+++	+++	++	+	—
„ „ Bock	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	+++	+++	+++	+++	+	±	—
„ „ 121	+++	+++	+++	++	+	L	—
„ „ 0	+++	+++	++	+	L	—	—
„ „ Sollmann	+++	+++	+++	+++	+++	++	±
„ „ Station	+++	+++	++	+	±	—	—
„ „ Moskau 3a	+++	+++	+++	+++	+++	++	L
„ „ Mäusetyphus	—	—	—	—	—	—	—
Typhus Pichel	L	—	—	—	—	—	—
„ Seidel	L	—	—	—	—	—	—
Paratyphus A	+	±	—	—	—	—	—

nur 3 Stämme bildeten eine Ausnahme, Paratyphus B Bock, Aertryck und Mäusetyphus, die öfters ganz ausfielen oder doch nur in den Grenzen einer Mitagglutination beeinflußt wurden. Das Achard-Serum, welches anfangs bei einem Titer 1:4000 gar keine Einwirkung auf die genannten 3 Stämme hatte (Tabelle V), wies nach Monaten eine derartige Verstärkung der agglutinierenden Kraft auf, daß neben einer allgemeinen Verschiebung der Grenzwerte nach oben hin auch die früher ausgfallenen 3 Kulturen eine deutliche Beeinflussung, die beim Stamme Mäusetyphus den Titer 1:2000 erreichte, zeigten. Die Gärtner-Stämme wurden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VI.
Serum: Paratyphus B Halle, mit abgetöteten Kultur gewonnen.

Kultur	Verdünnung						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
Gärtner Alt	L	—	—	—	—	—	—
„ Grünthal	±	L	—	—	—	—	—
„ Günther	±	L	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 4	+	±	—	—	—	—	—
„ Halle	L	—	—	—	—	—	—
„ Abel	+	±	—	—	—	—	—
„ Kalbsleber	±	L	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 5	—	—	—	—	—	—	—
„ Haustedt 5	—	—	—	—	—	—	—
Paratyphus B Breslau	+++	+++	+	+	+	±	—
„ „ Achard	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
„ „ Aertryck	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Halle	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
„ „ Bock	++	+	±	L	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
„ „ 121	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
„ „ 0	+++	+++	+++	+++	+++	+	L
„ „ Sollmann	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
„ „ Station	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
„ „ Moskau 3a	+++	+++	+++	+++	++	±	±
„ „ Mäusetyphus	—	—	—	—	—	—	—
Typhus Pichel	L	—	—	—	—	—	—
„ Seidel	L	—	—	—	—	—	—
Paratyphus A	—	—	—	—	—	—	—

von diesen typischen Paratyphus-B-Seris nur kümmerlich bis 1:200 agglutiniert, Typhus- und Paratyphus-A-Bacillen blieben fast unberührt. Abgesehen von den 3 Kulturen, die bei den Agglutinationsversuchen mit Paratyphus-B-Seris stets versagten, reagierten die übrigen Paratyphus-B-Stämme durchweg stark und bis zur Titergrenze heran. Die Agglutination hatte qualitativ einen meist flockigen Charakter, indem man gröbere und gewöhnlich festere Flocken einerseits, und feinere und zugleich zartere andererseits unterscheiden konnte. Dieser vorherrschende Agglutinationsmodus war aber nicht ausschießlich vertreten, indem außer der Eigenart des Serums auch die Eigenschaften der Kultur eine Rolle zu spielen schienen: Bei einigen Kulturen (Breslau, Aertryck) war die feinkörnige Agglutination die gewöhnliche.

Die Einwirkung von Typhusserum, das von der Untersuchungsstation des Hygienischen Institutes stammte, zeigte ein verschiedenes Verhalten der Gärtner- und Paratyphus-B-Bacillen (Tab. VII): Während die ersteren stark und hoch beeinflußt wurden, ließen die zweiten nur eine mit der Lupe wahrzunehmende Agglutination erkennen. Dieses Verhältnis der Gärtner-Bacillen zu Typhusserum ist von mancher Seite, wie auch von Sobernheim und Seligmann betont worden und findet auch bei mir wieder eine Bestätigung. Das Paratyphus-A-Serum, ebenfalls von der Untersuchungsstation des Hygienischen Institutes, beeinflußte die Gärtner-, Paratyphus-B- und Typhusbacillen kümmerlich bis 1:100, nur vereinzelt auch höher bis 1:500 (Tabelle VIII).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII.

Serum: Typhus, von der Untersuchungsstation des Hygienischen Institutes.

Kultur	Verdünnung						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
Gärtner Alt	+++	+++	++	++	+	L	—
„ Grünthal	+++	+	+	L	—	—	—
„ Günther	+++	+++	+	±	L	—	—
„ Rumfleth 4	+++	+++	+	L	—	—	—
„ Halle	++	+	±	L	—	—	—
„ Abel	+++	+++	+	±	—	—	—
„ Kalbsleber	+++	+++	+	±	—	—	—
„ Rumfleth 5	—	—	—	—	—	—	—
„ Haustedt 5	—	—	—	—	—	—	—
Paratyphus B Breslau	L	L	L	—	—	—	—
„ „ Achard	L	L	L	—	—	—	—
„ „ Aertryck	L	L	—	—	—	—	—
„ „ Halle	L	L	L	L	—	—	—
„ „ Bock	L	L	—	—	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	L	—	—	—	—	—	—
„ „ 121	+	+	±	L	—	—	—
„ „ 0	L	L	L	L	—	—	—
„ „ Sollmann	L	L	L	—	—	—	—
„ „ Station	L	L	L	L	—	—	—
„ „ Moskau 3a	L	L	—	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus	L	—	—	—	—	—	—
Typhus Pichel	+++	+++	+++	++	++	±	L
„ Seidel	+++	+++	++	++	+	+	L
Paratyphus A	L	—	—	—	—	—	—

Die Gärtner-Stämme und einige Paratyphus-B-Kulturen zeigen vorwiegend atypische Agglutination.

Tabelle VIII.

Serum: Paratyphus A, von der Untersuchungsstation des Hygienischen Institutes.

Kultur	Verdünnung					
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
Gärtner Alt	±	—	—	—	—	—
„ Grünthal	±	—	—	—	—	—
„ Günther	±	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 4	+	L	L	—	—	—
„ Halle	±	L	—	—	—	—
„ Abel	±	L	—	—	—	—
„ Kalbsleber	L	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 5	—	—	—	—	—	—
„ Haustedt 5	—	—	—	—	—	—
Paratyphus B Breslau	L	—	—	—	—	—
„ „ Achard	±	—	—	—	—	—
„ „ Aertryck	±	—	—	—	—	—
„ „ Halle	L	—	—	—	—	—
„ „ Bock	L	—	—	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	+	L	L	—	—	—
„ „ 121	+	L	L	—	—	—
„ „ 0	+	L	L	—	—	—
„ „ Sollmann	±	L	—	—	—	—
„ „ Station	±	L	L	—	—	—
„ „ Moskau 3a	+	L	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus	±	—	—	—	—	—
Typhus Pichel	—	—	—	—	—	—
„ Seidel	L	—	—	—	—	—
Paratyphus A	+++	+++	+++	++	+	L

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Abweichendes Verhalten einiger Gärtner- und Paratyphus-B-Stämme. Bei der agglutinatorischen Prüfung der Gärtner- und Paratyphus-B-Gruppe zeigten einige Stämme ein abweichendes agglutinables Verhalten, so daß in 6 Fällen mit Hilfe der Agglutinationsreaktion überhaupt keine nähere Differenzierung erzielt werden konnte, in einem Falle aber im Charakter der Verklumpung Eigentümlichkeiten an den Tag traten, die in Anbetracht der Abweichungen auch im agglutinogenen Verhalten derselben Kultur (Gärtner Alt) eine gewisse Bedeutung erlangen.

Die üblichen bakteriologischen Differenzierungsmethoden hatten für die genannten 7 Stämme ihre Zugehörigkeit zur Gruppe der Enteritisbakterien einwandsfrei erbracht: Gewisse Unterschiede im kulturellen Verhalten waren lediglich gradueller und nicht prinzipieller Natur und konnten eventuell auch bei anderen in jeder Beziehung typischen Stämmen gefunden werden. Nun wissen wir, daß die anfangs einheitliche Gruppe der Enteritisbakterien erst durch die Agglutinationsreaktion in die zwei Unterarten Bac. enteritidis Gärtner und Bac. paratyphus B getrennt wurden (de Nobele, Uhlenhuth u. a.). Vielleicht stellen die genannten Kulturen mit atypischem agglutinatorischem Verhalten weitere Abarten, Sondertypen dar? A priori läßt sich diese Frage mit „nein" beantworten. Dagegen spricht vor allen Dingen die Vorgeschichte jeder einzelnen Kultur, aus der wir ersehen, daß trotz der gegenwärtigen Abweichungen ursprünglich typische Eigenschaften vorhanden waren, auf Grund derer die Gruppenzugehörigkeit bestimmt und die entsprechende Bezeichnung beigelegt worden war. Es wäre auch schwer anzunehmen, daß im Laufe der Zeit Verwechslungen oder Verunreinigungen stattgefunden haben könnten, denn für die Entstehung von Reinkulturen besonderer Art in 7 Fällen würde die Vermutung kaum als Erklärung dienen können. Viel natürlicher dagegen erscheint die Deutung, daß es sich bei diesen Kulturen um Veränderungen oder Umwandlungen der ursprünglichen Eigenschaften selbst handelt, wofür auch das gegenwärtige Verhalten einige Anhaltspunkte gibt. Die agglutinablen wie agglutinogenen Eigenschaften bilden nämlich eine ganze Skala von Abstufungen, von den geringsten Abänderungen angefangen und mit der tiefgreifendsten Umwandlung beendet, so daß man bei Gegenüberstellung derselben den Entwickelungsgang der Umwandlung für jede einzelne Kultur zu erkennen glaubt. Daß bei Intaktheit der biochemischen Eigenschaften die Hauptveränderungen gerade das agglutinable und agglutinogene Vermögen betroffen haben, erklärt sich natürlich durch die biologisch höhere und feinere Differenzierung letzterer Funktionen; je höher und feiner aber die Differenzierung, desto leichter eine Störung der Funktion und um so schwerer ein Ersatz und eine Wiederherstellung derselben[1]). Bemerkenswert ist der Umstand, daß die Veränderungen der agglutinablen und agglutinogenen Substanz keineswegs gleichzeitig oder parallel miteinander vor sich gehen. Bei den meisten Kulturen werden in erster Linie die agglutinablen Eigenschaften betroffen: Von einigen Seris werden sie noch mitagglutiniert (Gärtner Halle auf Tabelle III, Paratyphus B Bock auf Tabelle VI), bei anderen fallen sie ganz aus (Bock, Aertryck,

1) Wie leicht die agglutinablen Eigenschaften eine Abänderung erfahren, beweisen die Versuche Boddaerts, der durch mehrfache Tierpassagen eine volle Inagglutinabilität bei einem bis dahin gut agglutinablen Paratyphus-B-Stamme erzielen konnte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mäusetyphus auf Tabelle V, Rumfleth, Haustedt auf Tabelle III—IV); kein echtes Gärtner- oder Paratyphus-B-Serum agglutiniert sie aber stark und typisch auch nur annähernd bis zum Grenztiter. Nur der Gärtner-Stamm Alt macht eine Ausnahme, indem seine agglutinablen Gruppeneigenschaften noch wohlerhalten sind und nur in qualitativer Hinsicht eine Abänderung zeigen.

Das agglutinogene Vermögen hat bei den einzelnen Kulturen graduell verschiedene Einbuße an Kraft und Spezifität erlitten: Neben Seris, die, wenn auch abgeschwächt ihre Gruppeneigenschaften klar zutage treten lassen und hauptsächlich die Angehörigen der entsprechenden Enteritisgruppe beeinflussen (Tabelle IX und X), finden wir auch solche, bei denen man noch kaum von irgendeiner Mitagglutination sprechen könnte (Tabelle XI) oder die keinerlei Beeinflussung der übrigen Stämme mehr erkennen lassen (Tabelle XII). Neben diesem größeren oder kleineren Schwunde der Gruppenspezifität finden wir gewöhnlich eine hohe Beeinflussung des homologen Stammes, mit dem das betreffende Serum erzeugt worden war (besonders Tabelle X u. a.). Nur der Gärtner-Stamm Alt zeigt eine doppelseitige Abschwächung seines agglutinogenen Vermögens wie im Sinne der Gruppenspezifität, so auch dem homologen Stamme gegenüber. Ein Serum war durch Vorbehandlung mit lebenden, ein anderes mit abgetöteten Kulturen hergestellt worden, in beiden Fällen führte aber die recht intensive Immunisierung bloß zu einem minderwertigen Serum (Tabelle XIII). Hier treffen wir aber auch eine andere Eigentümlichkeit an: Das Gärtner Alt-Serum beeinflußt die Gärtner- und die Paratyphus-B-Gruppe in annähernd gleichem Maße, indem einige Paratyphus-B-Stämme sogar höher agglutiniert werden. Bemerkenswert ist, daß zu diesen höchst beeinflußten Stämmen gerade die atypischen Kulturen, wie Aertryck und Mäusetyphus, gehören. Wenn wir uns die Agglutinationstabellen der atypischen Sera (Tabelle IX—XIII) näher ansehen, so finden wir in überraschender Weise sehr mannigfache Wechselbeziehungen zwischen diesen Seris und den sich abweichend, atypisch verhaltenden Kulturen: Während letztere nämlich von den typischen Seris kaum beeinflußt werden, zeigen sie nun zum Teil recht erhebliche Agglutination durch die atypischen Sera. So wird z. B. der Paratyphus-B-Stamm Mäusetyphus, dessen agglutinablen Eigenschaften wie auch diejenigen von Aertryck für verschiedene Sera als erloschen gelten konnten, vom Aertryck-Serum mit einem Male hoch und stark bis zum homologen Titer hinauf beeinflußt[1]); diese beiden Stämme werden auffallenderweise am höchsten vom Alt-Serum agglutiniert (Tabelle XIII). Der Stamm Gärtner Halle, welcher sogar von typischen Gärtner-Seris vielfach unberührt gelassen wurde, zeigt ebenfalls durch das Aertryck-Serum eine unter den anderen Gärtner-Stämmen hervorstechende Beeinflussung. Bei der Durchsicht der Agglutinationstabellen fällt auch das Verhalten der Kultur Breslau auf, die sich sonst bei der Prüfung als typischer, wenn auch schwach reagierender Paratyphus-B-Stamm erwies; merkwürdigerweise wird Breslau von manchen atypischen Seris unverhältnismäßig hoch agglutiniert (Tabelle X und XIII). Diese Tatsachen

1) Ob auch das umgekehrte Verhältnis Gültigkeit hätte, konnte leider nicht mehr festgestellt werden, nachdem ein zweimaliger Immunisierungsversuch mit der Mäusetyphuskultur an dem letalen Ausgange der Kaninchen scheiterte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IX.

Serum: Paratyphus B Bock, mit abgetöteten Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
Gärtner Alt	L	—	—	—	—	—	—
„ Grünthal	±	L	—	—	—	—	—
„ Günther	±	L	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 4	±	L	—	—	—	—	—
„ Halle	—	—	—	—	—	—	—
„ Abel	+	L	—	—	—	—	—
„ Kalbsleber	±	L	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 5	—	—	—	—	—	—	—
„ Haustedt 5	—	—	—	—	—	—	—
Paratyphus B Breslau	++	+	±	L	—	—	—
„ „ Achard	+++	+++	++	+	±	L	—
„ „ Aertryck	L	L	L	—	—	—	—
„ „ Halle	++	++	+	±	L	—	—
„ „ Bock	+++	+++	+++	+++	++	+	±
„ „ Brion-Kayser	±	±	L	—	—	—	—
„ „ 121	+++	+++	++	±	—	—	—
„ „ 0	++	+	±	L	—	—	—
„ „ Sollmann	+++	+++	+++	++	+	—	—
„ „ Station	++	++	+	±	L	—	—
„ „ Moskau 3a	+++	+++	+++	++	L	—	—
„ „ Mäusetyphus	—	—	—	—	—	—	—
Typhus Pichel	±	L	—	—	—	—	—
„ Seidel	—	—	—	—	—	—	—
Paratyphus A	+	—	—	—	—	—	—

Tabelle X.

Serum: Paratyphus B Aertryck, mit abgetöteten Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung							
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	1:16 000
Gärtner Alt	L	—	—	—	—	—	—	—
„ Grünthal	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Günther	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 4	L	—	—	—	—	—	—	—
„ Halle	++	+	±	L	—	—	—	—
„ Abel	L	—	—	—	—	—	—	—
„ Kalbsleber	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 5	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Haustedt 5	—	—	—	—	—	—	—	—
Paratyphus B Breslau	+++	+++	+++	+	±	L	—	—
„ „ Achard	+	+	±	L	L	—	—	—
„ „ Aertryck	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
„ „ Halle	L	L	—	—	—	—	—	—
„ „ Bock	±	L	L	L	—	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	±	L	L	L	—	—	—	—
„ „ 121	+	L	—	—	—	—	—	—
„ „ 0	±	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Sollmann	+	±	L	L	L	—	—	—
„ „ Station	L	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Moskau 3a	+	+	±	L	L	—	—	—
„ „ Mäusetyphus	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+
Typhus Pichel	+	L	—	—	—	—	—	—
„ Seidel	L	L	—	—	—	—	—	—
Paratyphus A	±	L	—	—	—	—	—	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XI.
Serum: Gärtner Halle b, mit lebenden Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
Gärtner Alt	—	—	—	—	—	—	—
„ Grünthal	—	—	—	—	—	—	—
„ Günther	—	—	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 4	L	—	—	—	—	—	—
„ Halle	+++	+++	++	++	+	±	L
„ Abel	L	—	—	—	—	—	—
„ Kalbsleber	L	—	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 5	—	—	—	—	—	—	—
„ Haustedt 5	—	—	—	—	—	—	—
Paratyphus B Breslau	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Achard	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Aertryck	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Halle	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Bock	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	L	—	—	—	—	—	—
„ „ 121	—	—	—	—	—	—	—
„ „ 0	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Sollmann	L	—	—	—	—	—	—
„ „ Station	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Moskau 3a	L	L	—	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus	L	—	—	—	—	—	—
Typhus Pichel	+	L	—	—	—	—	—
„ Seidel	+	L	—	—	—	—	—
Paratyphus A	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XII.
Serum: Gärtner Rumfleth 5, mit lebenden Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung					
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
Gärtner Alt	—	—	—	—	—	—
„ Grünthal	—	—	—	—	—	—
„ Günther	—	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 4	—	—	—	—	—	—
„ Halle	—	—	—	—	—	—
„ Abel	—	—	—	—	—	—
„ Kalbsleber	—	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 5	+++	+++	+++	++	++	L
„ Haustedt 5	+++	+++	+++	++	+	—
Paratyphus B Breslau	—	—	—	—	—	—
„ „ Achard	—	—	—	—	—	—
„ „ Aertryck	L	—	—	—	—	—
„ „ Halle	—	—	—	—	—	—
„ „ Bock	—	—	—	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	—	—	—	—	—	—
„ „ 121	—	—	—	—	—	—
„ „ 0	—	—	—	—	—	—
„ „ Sollmann	—	—	—	—	—	—
„ „ Station	—	—	—	—	—	—
„ „ Moskau 3a	—	—	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus	—	—	—	—	—	—
Typhus Pichel	—	—	—	—	—	—
„ Seidel	—	—	—	—	—	—
Paratyphus A	—	—	—	—	—	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XIII.
Serum: Gärtner Alt, mit lebenden Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung				
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
Gärtner Alt	±	L	L	L	L
„ Grünthal	++	++	+	L	—
„ Günther	++	++	+	L	—
„ Rumfleth 4	+++	++	+	±	—
„ Halle	+	L	—	—	—
„ Abel	++	+	±	—	—
„ Kalbsleber	++	+	L	—	—
„ Rumfleth 5	—	—	—	—	—
„ Haustedt 5	—	—	—	—	—
Paratyphus B Breslau	+	±	L	L	L
„ „ Achard	±	L	L	—	—
„ „ Aertryck	+	±	±	±	L
„ „ Halle	+	±	L	—	—
„ „ Bock	L	L	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	±	±	L	—	—
„ „ 121	±	L	—	—	—
„ „ 0	±	±	L	—	—
„ „ Sollmann	L	L	L	—	—
„ „ Station	±	±	—	—	—
„ „ Moskau 3a	L	L	—	—	—
„ „ Mäusetyphus	+	+	±	L	L
Typhus Pichel	L	—	—	—	—
„ Seidel	—	—	—	—	—
Paratyphus A	+	+	L	—	—

offenbaren eine engere Zusammengehörigkeit der atypischen Kulturen untereinander, die aber nicht als ein konstantes Verhältnis, sondern lediglich als eine temporäre Erscheinung aufzufassen ist. Das beweist auch die Regellosigkeit in den gegenseitigen Beziehungen, indem die Beeinflussung oft nur von einer Seite ausgeübt wird, ohne von der anderen erwidert zu werden: So wird z. B. der Stamm Aertryck vom Alt-Serum verhältnismäßig hoch agglutiniert, die Alt-Kultur bleibt aber bei der Einwirkung des Aertryck-Serums unberührt, oder umgekehrt, zeigt das Gärtner Halle-Serum keinerlei Einfluß auf den Aertryck-Stamm, während das Aertryck-Serum die Gärtner Halle-Kultur immerhin recht hoch agglutiniert. Es scheint, als ob die agglutinogene Substanz auf dem Wege der Ausartung zu einem gesonderten Verhalten eine Lockerung und Umgestaltung ihrer spezifischen Atomgruppen durchmacht, so daß neben einer Abschwächung der ihr zukommenden Gruppeneigenschaften zeitweilig für neue unerwartete, oft zufällige Einflüsse der Angriffspunkt gegeben sein mag. So kann man sich die sonderbare Beeinflussung der Paratyphus-B-Gruppe durch das Alt-Serum und die vielfachen anderen Wechselbeziehungen zwischen atypischen Kulturen und atypischen Seris erklären.

Die dargelegten Beobachtungen und Ueberlegungen bestätigen die aprioristische Annahme und vervollständigen den indirekten Beweis, daß es sich bei den 7 Kulturen mit dem abweichenden agglutinatorischen Verhalten wirklich um Stämme, die gegenwärtig auf verschiedenen Stufen der Umwandlung vom ursprünglichen Gärtner- oder Paratyphus-B-Typus zu Sonderarten stehen, handelt. Neben dem typischen kulturellen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verhalten und der Vorgeschichte dieser Kulturen steht als weiterer Beweis der Umstand da, daß trotz des Schwundes der spezifischen Agglutinabilität manche Kulturen in ihrem agglutinogenen Verhalten den ursprünglichen Gruppencharakter noch deutlich zutage treten lassen (Aertryck, Bock, Tabelle IX und X). Als zweiter Beweis kann die engere Zusammengehörigkeit der atypischen Stämme, die auf vielfach gleichartige Vorgänge in der Umwandlung und auch auf gleiche Ausgangspunkte für manche Kulturen hinweist, dienen. Als dritter Beweis kommt die in die Augen fallende Abstufung der gegenwärtig vorhandenen Eigenschaften bei den atypischen Kulturen in Betracht: obenan könnte man als am wenigsten tangiert die Kultur Breslau stellen, die sich allerdings noch typisch verhält, aber in der hohen Beeinflussung durch atypische Sera doch schon eine gewisse Alteration, eine Lockerung ihrer spezifischen Atomgruppierungen vermuten läßt; dann kommt die Gärtner-Alt-Kultur, deren Agglutinabilität wohl erhalten, qualitativ aber gelitten hat, dafür erweisen sich ihre agglutinogenen Funktionen am beträchtlichsten verändert; die Kulturen Aertryck und Bock sind ungefähr auf der gleichen Stufe der Ausartung angelangt, indem neben dem Verluste der spezifisch-agglutinablen Eigenschaften das agglutinogene Vermögen ihren Charakter noch deutlich zutage führt; die Kultur Mäusetyphus scheint in derselben Richtung, wie Aertryck, einer Ausartung zu verfallen, worauf — in Ermangelung eines entsprechenden Immunserums — die fast gleichen agglutinablen Eigenschaften, besonders bei Einwirkung des Aertryck-Serums, sprechen würden. Weiterhin folgt die Gärtner-Halle-Kultur, die neben dem Schwunde ihrer Agglutinabilität für typische Sera auch in den agglutinogenen Funktionen derartig geschädigt ist, daß ihre Gruppencharaktere nicht mehr zu erkennen sind und die übrigen Kulturen nur Spuren von Agglutination aufweisen. Als Schlußsprosse in dieser Stufenfolge, die das Bild einer allmählichen Umwandlung vom typischen Gruppenvertreter bis zum Sondertypus veranschaulicht, sind die beiden Kulturen Rumfleth 5 und Haustedt 5, deren kulturelles Verhalten allein noch auf ihre Gruppenzugehörigkeit zu den Enteritisbakterien hinweist, zu nennen.

Wenn ich also die abweichenden Befunde an bestimmten Kulturen auf eine Umwandlung zurückführe, so muß ich doch betonen, daß im Laufe der ganzen Beobachtungszeit, die sich über 7 Monate erstreckte, keine nennenswerten Veränderungen im Sinne einer weiteren Umwandlung konstatiert werden konnten: die einmal vorgefundenen Abweichungen blieben im Laufe der Untersuchungen ziemlich konstant. Beim heutigen Stande der Frage über die Variabilität, kann die Wandlungsfähigkeit der Bakterien natürlich nicht geleugnet werden, wie sie eben allen organisierten Gebilden, die den Gesetzen der Evolution und Degeneration unterliegen, eigen ist. Die von mir beobachteten Umwandlungserscheinungen sprechen nur für ein sehr langsames Fortschreiten dieses Prozesses und lassen sich am besten im Sinne einer progressiven Degeneration deuten: bei den künstlich geschaffenen, dazu wechselnden Bedingungen des Nährbodens und anderer äußerer Einflüsse, denen die Bakterienkulturen bei jahrelangem Fortzüchten in Laboratorien unterworfen sind, müssen derartige degenerative Vorgänge als eine gesetzmäßige Notwendigkeit betrachtet werden. Die abweichenden Befunde betrafen bei mir gerade ältere und recht alte Laboratoriumsstämme.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auf Grund des bisherigen Untersuchungsganges müssen meine Ergebnisse als recht verschieden von den Befunden Sobernheims und Seligmanns bezeichnet werden, zumal die oben dargelegten Betrachtungen sich zum großen Teil auf Stämme, die mir von Prof. Sobernheim zur Nachprüfung überlassen wurden, bezogen. Es sind die vier Kulturen Aertryck, Mäusetyphus, Rumfleth 5 und Haustedt 5, die in den Untersuchungen Sobernheims und Seligmanns zu den auffälligsten Resultaten führten. Der Aertryck-Stamm, der als Vertreter der Paratyphus-B-Gruppe beschrieben worden war, wurde in den Versuchen Sobernheims und Seligmanns besonders hoch und kräftig, dazu auch feinkörnig von den Gärtner-Seris agglutiniert, wogegen die Paratyphus-B-Sera in ihrer Wirkung weit hinter dem entsprechenden Grenztiter zurückblieben. Das Serum aber, welches bei intensiver Vorbehandlung mit dem Aertryck-Stamm hergestellt wurde, zeigte einen reinen Paratyphus-B-Charakter, ohne die Gärtner-, Typhus- und Paratyphus-A-Gruppe irgendwie nennenswert zu beeinflussen. Bei der Mäusetyphus-Kultur, die anfangs ihren Paratyphus-B-Charakter deutlich zum Ausdruck brachte, konnte von den genannten Autoren ein direkter Umschlag der agglutinablen Eigenschaften in den Gärtner-Typus verfolgt werden, während das mit ihr gewonnene Serum auch jetzt noch den Charakter eines zwar unvollkommenen, aber reinen Paratyphus-B-Serums zeigte. Auf diese Weise trat bei beiden Kulturen die ganz abnorme Erscheinung zutage, daß in agglutinabler Hinsicht man von echten Gärtner-Bacillen sprechen mußte, während die agglutinogenen Funktionen im vollen Widerspruche dazu echten Paratyphus-B-Charakter offenbarten: es lag eine Diskrepanz zwischen Agglutininbindung und Agglutininbildung vor. Beide Kulturen waren mir mit der Bezeichnung: „ursprünglich reine Paratyphen, jetzt auf Gärtner-Serum reagierend" überwiesen worden.

Ich konnte jedoch bei beiden Kulturen im Laufe der ganzen Beobachtungszeit nur einen Schwund der agglutinablen Paratyphus-B-Eigenschaften, ohne daß auch die geringsten Anzeichen einer Beeinflussung durch Gärtner-Sera aufgetreten wäre, konstatieren. Zur Bestimmung des antigenen Verhaltens der Aertryck-Kultur wurde durch fortgesetzte Immunisierung eines Kaninchens, dem nach 3—4 Injektionen immer wieder Probeblutentnahmen gemacht wurden (Tabelle I), 3 Sera erzielt, die jedoch bei gleicher Titerhöhe dieselbe Einwirkung auf die übrigen Stämme hatten und den Charakter eines zwar unvollkommenen, aber echten Paratyphus-B-Serums offenbarten. Für die Mäusetyphuskultur ließen sich infolge von wiederholten Tierverlusten die agglutinogenen Funktionen nicht direkt bestimmen, doch kann man indirekt aus der einzig dastehenden hohen Beeinflussung durch das Aertryck-Serum auf den annähernd gleichen Charakter mit der Aertryck-Kultur schließen.

Diese von Sobernheim und Seligmann für Aertryck, Mäusetyphus und noch andere Kulturen beschriebenen Befunde bedurften aber noch einer weiteren Analyse, da sie mit bestimmten Wachstumsverhältnissen dieser Kulturen auf Agarplatten in Zusammenhang gestanden hatten. Zur Aufklärung dieser komplizierten Beziehungen wurde eine große Reihe weiterer Versuche unternommen, die in dem zweiten Teil dieser Arbeit niedergelegt sind.

Hier muß ich noch das Verhalten der beiden anderen oben erwähnten Kulturen Rumfleth 5 und Haustedt 5 berühren. Diese zwei Kulturen stellen Stämme, die aus den ursprünglichen Kulturen Rum-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fleth und Haustedt durch Zerlegen derselben in Tochterkolonieen herangezüchtet waren, dar. Die ursprünglichen Kulturen Rumfleth und Haustedt, die in den Beschreibungen verschiedener Autoren (van Ermengem, Hübener) zu dem Typus Bac. enteritidis Gärtner zugezählt werden, wurden in den Versuchen Sobernheims und Seligmanns von keinem ihrer Gärtner-Sera in nennenswerter Weise beeinflußt; die mit abgetöteter und lebender Rumfleth-Kultur erzeugten Sera zeigten eine hauptsächliche, wenn nicht ausschließliche Einwirkung nur auf die Stämme Rumfleth und Haustedt, so daß die beiden genannten Autoren diese Stämme als Vertreter einer Sonderart der Enteritisbakterien anzusprechen geneigt waren. Nun ließ sich aber im Laufe der Monate bei beiden Kulturen ein erneutes Auftreten der Agglutinierbarkeit für Gärtner-Sera verfolgen. Ein Zerlegen der Kulturen in Tochterkolonieen ergab das frappante Resultat, daß sich mehrere Abarten, die nach Agglutinierbarkeit und Agglutininbildung den verschiedensten Uebergangsstufen entsprachen, herauszüchten ließen. Die als Rumfleth 5 und Haustedt 5 bezeichneten Kulturen gehörten zu der Abart, die nur durch das ursprüngliche Rumfleth-Serum agglutiniert wurde, während die früher erwähnte Kultur Rumfleth 4 z. B. einen doppelseitig-reagierenden Stamm, der sowohl von Rumfleth- wie auch von Gärtner-Serum hoch beeinflußt wurde, darstellte. Bei einigen der herausgezüchteten Tochterstämme konnten weitere Wandlungen konstatiert werden, die entweder in derselben Richtung einer Rückbildung zum Gärtner-Typus verliefen oder im Falle von wiedererlangten Gärtner-Eigenschaften in einem abermaligen Verluste der letzteren und in einer Rückkehr zum Sonderverhalten bestanden.

Bei meinen Versuchen nahmen die Kulturen Rumfleth 5 und Haustedt 5 wie hinsichtlich ihrer agglutinablen, so auch agglutinogenen Eigenschaften konstant eine Sonderstellung ein, wogegen die Kultur Rumfleth 4 nicht als Doppelstamm, sondern als reiner Gärtner-Bacillus reagierte. Es konnte keine Wandlung der agglutinablen Eigenschaften, geschweige denn eine Rückbildung zum Gärtner-Typus beobachtet werden; beide „Sondertypen" bildeten die Schlußsprosse in der Stufenfolge der in Degeneration begriffenen Kulturen.

Trotz der negativen Resultate bei den genannten Kulturen benutzte ich den von Sobernheim und Seligmann vorgezeichneten Weg zur Nachforschung ähnlicher Erscheinungen bei anderen Kulturen, die im Laufe der Versuche gewisse Schwankungen in der Agglutination zeigten.

Prüfung der Tochterstämme. Es lag nahe, anzunehmen, daß bei gewissen Schwankungen in der Agglutination einer Kultur, die doch das Gesamtergebnis von Millionen individueller Reaktionen zum Ausdrucke bringt, in deren Tochterstämmen — als den Vertretern dieser einzelnen Bakterienindividuen — größere Verschiedenheiten aufzuweisen wären. Zu diesem Zwecke strich ich die betreffenden Kulturen auf Agarplatten aus, durchmusterte die isoliert gewachsenen Kolonieen bei schwacher Vergrößerung, um ihre Reinheit mit Sicherheit festzustellen, und impfte dieselben in einer Anzahl von 10—12, nach entsprechender Bezeichnung auf Schrägagarröhrchen ab. Mit den so erhaltenen Tochterstämmen wurden vergleichende Agglutinationsversuche angestellt. Fanden sich irgendwelche Abweichungen im Sinne einer verstärkten oder abgeschwächten Agglutination bei dem einen oder anderen Tochterstamme,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

so wurden dieselben wiederum über die Platte geschickt und in Tochterkolonieen zerlegt. Die sorgfältig abgeimpften und herausgezüchteten Tochterstämme wurden dann einer abermaligen Agglutinationsprüfung unterworfen.

Auf diese Weisen wurden z. B. die Kulturen Gärtner Grünthal und Günther untersucht: es handelte sich hier nur um geringfügige Unterschiede, der Grenztiter schwankte bei einigen Tochterstämmen um eine Verdünnung, für gewöhnlich aber wurden alle Tochterstämme mit erstaunlicher Gleichmäßigkeit gleich hoch und stark agglutiniert. Als Beispiel kann die Tabelle XIV dienen, auf der das Verhalten von 12 Tochterstämmen der zweiten Generation wiedergegeben ist; bei der Prüfung der ersten 12 Tochterstämme der Kultur Grünthal hatten sich Schwankungen um eine Verdünnung gezeigt; daraufhin wurde je einer der am schwächsten (Grünthal 4) und der am stärksten (Grünthal 8) beeinflußten Tochterstämme in je 6 weitere Unterkulturen zerlegt, deren Verhalten aus der Tabelle XIV zu ersehen ist. Bei der Kultur Gärtner Halle, die auf Gärtner-Sera gar nicht reagierte, wurde mit Hilfe des Plattenverfahrens versucht, variable Formen mit besser ausgeprägter Gärtner-Agglutinabilität herauszuzüchten, doch blieb jeder Erfolg aus.

Tabelle XIV.

Serum: Gärtner Kalbsleber, mit lebenden Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
Gärtner Grünthal 4a	+++	+++	+++	+++	++	L	—
„ „ 4b	+++	+++	+++	+++	++	±	—
„ „ 4c	+++	+++	+++	+++	+	L	—
„ „ 4d	+++	+++	+++	+++	++	±	—
„ „ 4e	+++	+++	+++	+++	++	±	—
„ „ 4f	+++	+++	+++	+++	++	±	—
„ „ 8a	+++	+++	+++	+++	++	+	—
„ „ 8b	+++	+++	+++	+++	++	+	—
„ „ 8c	+++	+++	+++	+++	+	L	—
„ „ 8d	+++	+++	+++	+++	++	±	—
„ „ 8e	+++	+++	+++	+++	+	L	—
„ „ 8f	+++	+++	+++	+++	++	L	—

Bei einem Paratyphus-B-Stamme Achard setzte ich die Nachforschung bis in die dritte Generation der Tochterstämme fort, indem von jeder Generation immer wenigstens ein Vertreter der stärksten und einer der schwächsten Agglutination zu eventuellen weiteren Prüfungen aufgehoben wurde. Es fanden sich hier einige erheblichere Abweichungen unter den Tochterstämmen, dessen Grenztiter bis zu zwei Verdünnungen schwankte. Doch ließen sich keine Abarten, die eine schwächere oder stärkere Agglutination als konstante Eigenschaft aufweisen würden, herauszüchten. Zerlegte man z. B. einen schwach reagierenden Tochterstamm in weitere Tochterkolonieen, so erhielt man keine entsprechenden niedrigen Agglutinationswerte, sondern der Grenztiter schwankte wie vorher zwischen denselben Verdünnungen. Späterhin wurden die einzelnen Vertreter der drei Generationen, die größere Abweichungen in der Agglutination aufgewiesen hatten und daher aufgehoben worden waren, nochmals durchgeprüft, indem sich nunmehr keinerlei Unterschiede feststellen ließen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aehnliche Versuche wurden auch mit den gleich zu besprechenden a- und b-Stämmen einiger Mischkulturen (Paratyphus-B-Bock und Gärtner Abel) angestellt, doch ohne nennenswerte Resultate zu erzielen.

Bei keiner einzigen Kultur gelang es also, auf diesem Wege eine plötzliche Veränderung der agglutinablen Eigenschaften zu konstatieren oder irgendwelche abweichenden Tochterstämme herauszuzüchten. Im Gegenteile, man mußte oft staunen, mit welcher Regelmäßigkeit — für gewöhnlich — alle Tochterstämme ein und dieselbe Titergrenze einhielten und hier in der Agglutination abbrachen. Wenn wir die Wandlungsfähigkeit der Bakterien als zugegeben betrachten, so müssen wir die Gleichmäßigkeit, mit der jeder einzelne Bacillus von diesem Prozesse betroffen wird, bewundern.

II. Teil.

Zu eingehenden Untersuchungen veranlaßten mich gewisse Beobachtungen Sobernheims und Seligmanns, die eine gesetzmäßige Beziehung zwischen bestimmten Kolonieenformen auf Agarplatten und dem agglutinatorischen Verhalten der betreffenden Kulturen feststellen konnten. Es handelte sich dort um 6 Kulturen, die anfangs als echte Paratyphus-B-Bacillen imponierten, im Laufe der Zeit aber eigentümliche Veränderungen durchmachten, indem sie nunmehr von Gärtner-Seris beeinflußt wurden. Dabei war die ursprüngliche Agglutinabilität für Paratyphus-B-Sera in alter Kraft erhalten geblieben, oder sie zeigte sich wohl meist abgeschwächt oder sie konnte auch ganz geschwunden sein. Entsprechend diesen Verhältnissen fanden sich beim Plattenverfahren neben den „typischen" glashellen, kreisrunden und durchsichtigen Kolonieen andere „atypische", geriffelte, mit unscharfem, gezacktem Rande und mit undurchsichtiger, gekörnter Oberfläche; oder diese letzteren waren in der Hauptzahl neben spärlichen typischen vertreten, oder es waren endlich nur die atypischen Kolonieen ausschließlich vorhanden. Die typischen kreisrunden und glashellen Kolonieen erwiesen sich bei der Agglutinationsprüfung als reine Paratyphus-B-Bacillen, die atypischen, gezackten dagegen zeigten eine doppelseitige Beeinflussung oder vorherrschend eine Agglutination mit Gärtner-Seris, oder sie reagierten endlich ganz wie echte Gärtner-Bacillen. Es konnte sich somit um Mischkulturen handeln, oder man müßte die Möglichkeit eines Ueberganges der Kolonieen des einen Typus in den anderen zulassen. Für letztere Annahme schien die Tatsache zu sprechen, daß bei einer und derselben Kultur die Agglutinabilität für Gärtner-Sera bald auftrat, bald wieder verschwand, indem gleichzeitig im ersten Falle die atypischen Kolonieen vorgefunden wurden, im zweiten Falle dieselben dagegen fehlten. Von den mir eingesandten Kulturen beziehen sich auf die eben besprochenen Beobachtungen Sobernheims und Seligmanns folgende drei: Bac. Aertryck, Mäusetyphus 23 und Moskau 3a.

Diese hochinteressanten Tatsachen beanspruchten meine Aufmerksamkeit wie hinsichtlich ihrer theoretischen Bedeutung, so auch aus praktischen Gründen. Denn angesichts der auf Agarplatten zutage tretenden Unterschiede zwischen „typischen" und „atypischen" Kolonieen war nun die größte Aussicht vorhanden, durch eine sorgfältige Plattendurchmusterung aller meiner Kulturen den beschriebenen und gesuchten Abweichungen auf die Spur zu kommen.

Technik des Plattenverfahrens. Zu meinen ersten Versuchen verwandte ich, ohne besonders darauf zu achten, für meine Platten ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schiedenen Agar (3-proz., 2-proz.). Doch erhielt ich hierbei nicht immer zufriedenstellende Resultate, indem das Aussehen der Kolonieen oft durch unberechenbare Einflüsse, augenscheinlich sekundärer Natur, beeinträchtigt erschien. Eine und dieselbe Kultur zeigte an einem Tage das eine Bild, am anderen Tage von dem ersteren abweichende Formen, oder auf einer und derselben Platte sogar bot der Ausstrich einer bestimmten Kultur Kolonieen von verschiedenem Aussehen, indem sich die Veränderung allmählich von einer Seite zur anderen hin vollzog, so daß die äußersten Vertreter miteinander nichts Gemeinsames mehr hatten. Es kommen bei Beurteilung dieser äußeren Einflüsse verschiedene Momente, wie die Beschaffenheit des Agars mit dem schwankenden Verhältnisse seiner Bestandteile, besonders seinem Wassergehalte, vielleicht die Dicke der gegossenen Schicht u. a. in Betracht. Gerade bei den gewöhnlichen 2- und 3-proz. Agarplatten hatte ich den Eindruck, daß das Aussehen der Kolonieen durch Eintrocknungserscheinungen recht bedeutend beeinträchtigt wird. Ohne die genannten Verhältnisse genauer untersucht zu haben, blieb ich rein empirisch auf 0,5-proz. Traubenzuckeragar, als dem für meine Zwecke günstigsten Nährboden stehen. Ich erhielt mit Hilfe desselben stets eindeutige, daher einwandfreie und sichere Resultate; konnte bei irgendeinem abweichenden Befunde eine sekundäre Beeinträchtigung vermutet werden, so wurde die Kultur so lange über verschiedene Platten geschickt, bis man endgültig des Zweifels behoben war. Alle Kulturen wurden zu wiederholten Malen auf Agarplatten ausgestrichen und durchmustert, die einzelnen Kolonieen im hängenden Tropfen und Gram-Präparate besehen und mehrfach das kulturelle Verfahren mit den Differentialnährböden zur Hilfe herangezogen. Um den Einfluß des Traubenzuckeragars auf die Gestaltung der Kolonieen auszuschließen, habe ich in vielen Fällen parallel auch 3-proz. Agar verwendet und, abgesehen von den oben erwähnten Sekundärerscheinungen, stets dieselben Resultate erzielt.

Kolonieenformen auf Agarplatten. Die Ergebnisse meiner Plattenuntersuchungen weichen in mancher Hinsicht von den üblichen Beschreibungen ab. Sobernheim und Seligmann sprechen z. B. von einer „typischen“ Kolonieenform, die sie für die Paratyphus-B-Bacillen in den kreisrunden, glashellen, durchsichtigen Kolonieen erblicken und die sie den „atypischen“ gezackten, geriffelten und gekörnten gegenüberstellen. Kutscher erwähnt nur das Wachstum auf Gelatineplatten, wo gewöhnlich keine charakteristische Weinblattform, sondern nach einigen Tagen meist rundliche oder ovale Kolonieen mit scharfem, seltener eingebuchtetem Rande und bräunlichem Zentrum vorgefunden werden sollen. In der jüngst erschienenen, sehr eingehenden Monographie von Hübener wird eine ähnliche Beschreibung, wie bei Sobernheim und Seligmann, gegeben: Hiernach sollen nur scharf konturierte, runde, grauweiße Kolonieen gebildet werden, die öfters ein etwas dunkleres oder leicht eingesunkenes Zentrum zeigen; dagegen soll die sogenannte Weinblattform, wie sie den Typhusbacillen eigen ist, nicht beobachtet werden.

Die von mir vorgefundenen Kolonieenformen ließen sich in drei Kategorieen einteilen; in einer jeden von ihnen konnte man schärfer und schwächer ausgeprägte Formen unterscheiden (Tabelle XV).

Als erste Art will ich die Kolonieen, welche der „typischen“ Form von Sobernheim und Seligmann entsprechen, nennen: Sie sind kreisrund, kuppenförmig erhaben, zeigen bei schwacher Vergrößerung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XV.

Kultur	Kolonieenform		
	Typus b	Typus a_1	Typus a_2
Gärtner Alt	.	+	.
„ Grünthal	.	.	+
„ Günther	.	+	.
„ Rumfleth 4	+	.	.
„ Halle	+	+	+
„ Abel	+	+	.
„ Kalbsleber	+	.	.
„ Rumfleth 5	+	.	.
„ Haustedt 5	+	.	.
Paratyphus B Breslau	+	.	.
„ Achard	.	+	.
„ Aertryck	.	.	+
„ Halle	.	.	+
„ Bock	+	+	.
„ Brion-Kayser	+	+	.
„ 121	+	+	+
„ 0	.	.	+
„ Sollmann	+	+	.
„ Station	.	.	+
„ Moskau 3a	.	+	.
„ Mäusetyphus	+	+	+
Typhus Pichel	.	.	+
„ Seidel	+	.	.
Paratyphus A	+	.	.

einen ganz hellen Rand und eine mehr blaßgelblich pigmentierte Zentralzone; die innere Zeichnung fehlt fast ganz, das Aussehen ist mehr homogen, oder man trifft eine undeutliche Schraffierung oder eine besser ausgeprägte feinkörnige Beschaffenheit an. Diesen Typus, den ich durch ein kleines „b“ kennzeichne, weisen folgende Kulturen auf: Am ausgesprochensten Gärtner Kalbsleber, Sondertypen Rumfleth 5 und Haustedt 5; dann Gärtner Rumfleth 4 und Paratyphus B Breslau, bei denen die Randlinie hin und wieder sanft gebuchtet, die Erhebung mehr flach war.

Die zweite wie auch die dritte Art entsprechen der „atypischen“ Form von Sobernheim und Seligmann und stellen mehr einen graduellen als prinzipiellen Unterschied dar.

Die Kolonieen der zweiten Art sind ausgesprochen flach, haben einen gezackten Rand und eine meist ganz helle, breitere Randzone, die von dunklen, scharf umschriebenen, verzweigten Linien in annähernd radiärer Richtung bis zur Peripherie durchzogen wird; zum Zentrum hin bilden diese Linien, die Furchen entsprechen, meist ein Maschenwerk, welches sich gewöhnlich in einer gelb pigmentierten, körnigen Beschaffenheit der Zentralzone auflöst. Bei einigen Kulturen bildet die Zentralzone der Kolonieen eine merkliche Erhebung über der flach ansteigenden Randpartie. Also gezackter Rand, helle Randzone mit verzweigten Furchen darauf und gelb pigmentiertes, körniges Zentrum — das sind die Hauptmerkmale dieses zweiten Typus, den ich mit einem kleinen „a_1“ bezeichne. Hierher gehören folgende Kulturen: Gärtner Alt, Gärtner Günther, Paratyphus B Achard, Paratyphus Moskau 3a (Tabelle XV).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Hauptmerkmale der dritten Art sind: Ein meist sanft gebuchteter Rand, von dem aus tiefe, geschlängelte und verästelte Furchen das Innere der ganzen Kolonie durchziehen, annähernd parallel miteinander verlaufend und die Kolonie in einzelne Windungen zerschneidend, so daß man im kleinen ein dem Gehirne ähnliches Bild mit dessen Sulci und Gyri erhält. Die von den Furchen begrenzten Windungen der Kolonie weisen des öfteren eine feinste Längsschraffierung auf. Die Zentralzone erhält bei größeren Kolonieen eine gelbliche Pigmentierung, in der nur noch ein wirres Lockenwerk und zum Teil körnige Beschaffenheit zu erkennen sind. Die Kolonieen sind meist deutlicher erhaben, als diejenigen vom Typus a_1. Hierher gehören folgende Kulturen: Mit stark ausgeprägter Kolonieenform — Paratyphus B Aertryck und Paratyphus B Halle, mit schwächer ausgesprochenem Typus — Gärtner Grünthal, Paratyphus B Station und Paratyphus B O. Diese Kolonieenart habe ich mit „a_2" bezeichnet (Tabelle XV).

Die beiden letztbeschriebenen Kolonieenarten, die flachgezackte a_1 und gefurcht gebuchtete a_2, erinnern an die Weinblattform, die von Typhusbacillen auf Agarplatten gebildet werden soll. Einer meiner Typhusstämme (Pichel) zeigte auch in ausgesprochener Weise auf jeglichen Platten die ihm gebührende Weinblattform, während der andere (Seidel) nur auf Gelatineplatten eine solche hervorbrachte, auf Agarplatten dagegen eine mehr rundliche, helle und homogene Kolonieenform zeigte.

Die bei einer bestimmten Kultur einmal festgestellte Kolonieenform konnte bei wiederholten Ausstrichen immer wieder gefunden werden, so daß die Bildung charakteristischer Kolonieen in der Regel als eine im Laufe geraumer Zeit konstante Eigentümlichkeit der Kulturen angesehen werden mußte.

Die bisherigen Befunde beweisen schon, daß keiner von beiden Enteritisgruppen ein einheitlicher Kolonieentypus zukommt, so daß keine der drei genannten Kolonieenarten die Bezeichnung „typisch" oder „atypisch" verdient; höchstens kann man von einer vorherrschenden Form sprechen (Tabelle XV). Der Gärtner-Gruppe ist mehr der kreisrunde, homogene Typus b, der Paratyphus-B-Gruppe hauptsächlich der gefurcht-gebuchtete Typus a_2 eigen, wogegen der flach gezackte Typus a_1 beiden Gruppen in gleichem Maße zukommt. Diese Befunde stimmen mit denjenigen von Sobernheim und Seligmann insofern nicht überein, als letztere den Paratyphus-B-Kulturen gerade die hellen, kreisrunden Kolonieen als die „typische" Form zuschreiben, während sie mit den „atypischen" Kolonieen, die meinem Typus a_1 und a_2 entsprechen, Gärtner-Eigenschaften in Zusammenhang bringen.

Die systematischen Plattenuntersuchungen aller meiner Sammlungsstämme deckten mir unter ihnen eine Reihe von Mischkulturen auf, die den von Sobernheim und Seligmann beschriebenen Verhältnissen entsprechen mußten und die natürlich einer ganz besonders eingehenden Nachprüfung unterzogen wurden. Diese Mischkulturen wiesen bei Plattenausstrichen nicht einen von den drei genannten Kolonieentypen, sondern nebeneinander zwei oder sogar drei Arten auf und boten dadurch sehr charakteristische Bilder, die je nach der vorherrschenden Kolonieenform ein verschiedenes Aussehen haben konnten. Oft sah man vorzugsweise die hellen Kolonieen, von denen sich dann die gezackten und gefurchten Formen durch stärkere Lichtbrechung scharf abhoben, indem sie z. B. einen hellen Kulturstreifen plötzlich unterbrachen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oder sich keilartig einschoben, oder als fremdartiger Auswuchs einer isoliert stehenden hellen Kolonie anhingen.

Zu den Mischkulturen, die zwei Arten von Kolonieen und zwar neben hellen, kreisrunden (b) auch flach gezackte (a_1) aufwiesen, gehören: Drei Paratyphus-B-Stämme Bock, Brion-Kayser und Sollmann und ein Gärtner-Stamm Abel; alle drei Kolonieenarten ($b + a_1 + a_2$) wurden bei zwei Paratyphus-B-Stämmen 121 und Mäusetyphus und bei einem Gärtner-Stamme Halle vorgefunden (Tabelle XV).

Die einzelnen Kolonieen jeder Mischkultur wurden abgeimpft, mehrfach über die Platte geschickt und im Laufe der weiteren Beobachtungszeit immer wieder einer Reinigung und Prüfung unterworfen. In der Regel blieb der einmal festgestellte Charakter der Kolonieen bestehen. Einige Ausnahmen von dieser Regel gewinnen aber eine besondere Bedeutung für die Entscheidung der Frage, ob wir in dem gleichzeitigen Befunde von zwei oder drei Kolonieenarten in einer und derselben Kultur den Ausdruck einer Symbiose von ebenso vielen verschiedenen Bakterienarten zu erblicken hätten, oder ob es sich dabei um variable Wachstumsformen eines und desselben Bakterienstammes handeln könnte? Für die letztere Annahme schienen die Beobachtungen an einigen Kulturen, welche im Laufe der Zeit eine augenscheinliche Umwandlung ihres Wachstumsmodus auf Agarplatten zeigten, zu sprechen.

Die Ursachen solch einer Umwandlung ließen sich nicht ergründen. Die Versuche, diesen Prozeß künstlich durch ungünstige äußere Einflüsse, wie permanente Brutofentemperatur, intensives Sonnenlicht oder veränderte Nährbodenverhältnisse zu steuern oder hervorzurufen, bewiesen nur die volle Unabhängigkeit dieser eigentümlichen Vorgänge von gröberen Eingriffen in die subtile Lebenstätigkeit der Bakterien.

Die Umwandlung, die zu einem Schwunde ursprünglich gut abgegrenzter Kolonieenarten führte, wurde bei dem Paratyphus-B-Stamme Bock und der Gärtner-Kultur Abel beobachtet. Bei der Bock-Kultur konnte im Laufe von 2 Monaten mehrfach immer derselbe Befund erhoben werden, nämlich daß die Ausgangskultur zwei Arten von Kolonieen ($b + a_1$) auf Agarplatten zeigte, während die isoliert abgeimpften Tochterstämme die ihnen zukommende Kolonieenform in charakteristischer Weise aufwiesen. Nach 3 Monaten dagegen konnten trotz wiederholter Plattenausstriche die prägnanten Formen nicht mehr erzielt werden: Die Ausgangskultur wies nur einen Kolonieentypus, der den Eindruck von einer Mittelstufe zwischen den ursprünglichen Formen machte, auf, und auch die beiden Tochterstämme zeigten in ihren Kolonieenformen eine große gegenseitige Annäherung. Bei wiederholten Ausstrichen der Ausgangskultur konnte einmal unter den einheitlich gestalteten, mehr homogenen Kolonieen eine einzige mit gefurchter Randzone gefunden werden, als Andeutung auf die früher stattgehabten Verhältnisse. Doch zeigten die nächsten Generationen, die von dieser gefurchten Kolonie abgeimpft wurden, wiederum den Schwund der a_1-Charaktere. Endlich, nach $4^1/_2$ Monaten, konnte das Auftreten von einzelnen Kolonieen, die den gefurcht-gebuchteten Typus a_2 zur Schau trugen und beim Weiterzüchten denselben beibehielten, konstatiert werden.

Bei der Mischkultur Gärtner Abel, die anfangs ebenfalls aus zwei Komponenten mit dem hellen, kreisrunden und flachgezackten Kolonieentypus bestand, konnten ähnliche Veränderungen beobachtet werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Ausgangskultur wies im Laufe der Zeit nur noch eine Kolonieenform — die helle, kreisrunde auf, während die beiden Tochterstämme ($a_1 + b$) nach zeitweiliger Abschwächung ihrer charakteristischen Merkmale späterhin den entsprechenden Kolonieentypus wieder gut ausgeprägt zeigten.

Bei einer Kultur, dem Mäusetyphusstamme, traten im Laufe der Zeit an Stelle einer Kolonieenform mehrere auf. Anfangs fand sich nur die eine flach gezackte Kolonieenart mit gefurchter Randzone (Typus a_1). Nach einiger Zeit erschien die Furchenbildung weniger ausgeprägt, und endlich, nach 3 Monaten, konnten fast ausschließlich kreisrunde, helle Kolonieen, in deren Randzone manchmal einige Furchen als Andeutung auf die früher bestandene Form verliefen, vorgefunden werden. Nur vereinzelt, an einer oder zwei Stellen, konnten Einlagerungen, die an die gefurcht-gebuchtete Kolonieenform erinnerten, beobachtet werden. Diese Stellen wurden abgeimpft und ergaben in charakteristischer Weise ausschließlich Kolonieen vom gefurcht-gebuchteten Typus a_2, während die abgeimpften hellen, kreisrunden Kolonieen (b) ihre Form auch weiterhin beibehielten. Bei weiteren Ausstrichen der Ausgangskultur konnte auch der flach gezackte Typus a_1 in reiner Form herausgezüchtet werden. Angesichts dieser Veränderungen wurde auch eine ältere Kultur des Mäusetyphusstammes, die das aus Berlin eingesandte Schrägagarröhrchen darstellte und die im Laufe von $4^1/_2$ Monaten unberührt geblieben war, einer Untersuchung unterworfen. Auch hier konnte eine Umwandlung des ursprünglichen flach gezackten Kolonieentypus in die helle, kreisrunde Form festgestellt werden. Diese gleichartige Umwandlung zweier Kulturen, die, von einem Bakterienstamme herrührend, bei verschiedenen Verhältnissen gezüchtet werden, scheint auf gewisse innere Ursachen, die diese Umwandlung bedingen könnten, hinzuweisen.

Für die Wandlungsfähigkeit der Kolonieenformen spricht schließlich noch die Mischkultur Gärtner Halle, aus der zwei Tochterstämme (b und a_2) mit Leichtigkeit isoliert werden konnten, der dritte Tochterstamm aber derartig variable Kolonieenformen zeigte, daß sie bald nur gekörnt, bald mit gefurchter Randzone erschienen, aber keine endgültige Form beibehielten.

Ob diese Wandlungsfähigkeit der Kolonieen, diese rein äußerlich wahrzunehmende Veränderung des Wachstumsmodus zu inneren Eigenschaften, zu wichtigen biologischen Funktionen in der Lebenstätigkeit der Bakterien in Beziehung stehen könnte, zur Entscheidung dieser Frage, wie auch zur näheren Identifizierung der aus den Mischkulturen herausgezüchteten Tochterstämme mußten weitere Differenzierungsmethoden und die Agglutinationsprobe angewandt werden.

Die aus den Mischkulturen herausgezüchteten Stämme bezeichne ich je nach ihrem Kolonieentypus durch Zusatz eines kleinen b, a_1 oder a_2. Da aber die beiden letzteren Kolonieenarten der „atypischen" Form von Sobernheim und Seligmann entsprechen, so fasse ich sie unter einer gemeinsamen Bezeichnung Typus a zusammen und stelle sie dem Typus b gegenüber. Zur Untersuchung kamen folgende Stämme:

Typus a.			Typus b.		
1)	Paratyphus B	Bock a_1	1)	Paratyphus B	Bock b
2)	„	„ 121 a_1	2)	„	„ 121 b
3)	„	„ 121 a_2			
4)	„	„ Brion-Kayser a_1	3)	„	„ Brion Kayser b
5)	„	„ Sollmann a_1	4)	„	„ Sollmann b
6)	„	„ Mäusetyphus a_1	5)	„	„ Mäusetyphus b
7)	„	„ Mäusetyphus a_2			

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Typus a.	Typus b.
8) Gärtner Abel a_1	6) Gärtner Abel b
9) „ Halle a_1	7) „ Halle b
10) „ Halle a_2	

Morphologie der a- und b-Stämme. In allen Fällen wurden Bacillenformen vorgefunden, die von kleinen kurzen Stäbchen bis zu langen Fäden in der Größe variierten. Die Beweglichkeit im hängenden Tropfen war meist gut ausgeprägt, nur die längeren Fäden büßten ihre Beweglichkeit regelmäßig ein. Nach Gram verhielten sich die Bacillen aller drei Kolonieenarten negativ. Im gefärbten Präparate traten deutlich gewisse Unterschiede zwischen den drei Kolonieenformen, die in einem gesetzmäßigen Zusammenhange mit dem entsprechenden Wachstumsmodus zu stehen schienen, zutage. Die Kolonieen des Typus b (die hellen, kreisrunden) ergaben stets vereinzelt liegende Bacillen, die nur selten kürzere Verbände aus 2, 3, 4 Stäbchen bildeten. Bei den Kolonieen des Typus a_1 (die flach gezackten, mit gefurchter Randzone) fand man unter vereinzelt und zu zweien liegenden Bacillen regelmäßig längere Gebilde, die aus mehreren miteinander verbundenen Stäbchen zu bestehen schienen und hin und wieder die Größe eines Fadens erreichten. Beim Typus a_2 (den gefurcht-gebuchteten Kolonieen) traf man fast ausschließlich lange Bacillenverbände, die oft als lange Fäden über das ganze Gesichtsfeld hinwegzogen, an; daneben befanden sich auch kürzere Fäden und vereinzelt liegende Bacillen, sie machten aber mehr den Eindruck von abgesprengten Stücken, in die beim Verreiben mancher Faden zerfallen sein mochte. Trotzdem daß durch die Geißelfärbung nach Peppler bei langen Fäden ein intakter Geißelapparat nachgewiesen werden konnte, fehlte ihnen im hängenden Tropfen eine wahrnehmbare Beweglichkeit. Aus den genannten Befunden ersieht man, daß die Furchung der Kolonieen mit der Fadenbildung in ursächlichem Zusammenhange stehen muß. Das konnte auch dadurch veranschaulicht werden, daß gefärbte Präparate von der gefurchten Randpartie und von der gekörnten Zentralzone einer und derselben Kolonie verschiedene Bilder boten: Dort war die Fadenbildung vorherrschend, hier dagegen wurden fast ausschließlich vereinzelt liegende Bacillen angetroffen.

Das Plattenverfahren. Das Verhalten auf Agarplatten habe ich schon besprochen. Hier sei noch erwähnt, daß bei einigen Kulturen die Kolonieen auf den Agarplatten einer schleimigen Metamorphose unterfielen, indem vom Rande aus ein schleimig-glänzender erhabener Wall sich allmählich zum Zentrum hin vorschob, hier eine tiefe Delle bildend, die aber schließlich auch überdeckt wurde, so daß die Kolonie nun eine größere, halbkugelförmige, schleimig-glänzende Erhebung darstellte. Gefärbte Präparate, die in verschiedenen Zeitabständen gemacht wurden, zeigten, daß diese Metamorphose mit einer Umwandlung der Bacillen selbst verbunden war, indem sich an verschiedenen Stellen der Bakterienleiber, besonders aber an deren Enden spindelartige, gequollen aussehende Verdickungen bildeten, die kaum noch Farbstoff annahmen und als blasse Schollen dem Reste eines Bacillus anhingen oder einen längeren Faden mehrfach unterbrachen. Auch freie, von den Bacillen losgelöste farblose Schollen konnte man antreffen.

Das Verhalten auf Gelatineplatten bot nichts Charakteristisches und stand oft mit dem entsprechenden Typus der Agarkolonieen nicht in Einklang. Immerhin hatten die Kolonieen vom Typus **b** mehr die Neigung in die Höhe auszuwachsen und rundliche Formen von weißlich-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gelblicher Farbe zu bilden, während die Kolonieen vom Typus a_1 und a_2 sich meist der Fläche nach ausbreiteten, mehr unregelmäßig geformt, durchscheinend und von Furchen durchzogen waren. Die tiefliegenden Gelatinekolonieen hatten für keinen der drei Typen eine charakteristische Form: Es kamen verschiedentlich bald rundliche, bald wetzsteinförmige, auch unregelmäßig gestaltete Kolonieen vor.

Mit Hilfe des Burrischen Tuschepunktverfahrens[1]) konnte der endgültige Beweis erbracht werden, daß es sich bei den herausgezüchteten Stämmen um Reinkulturen handelte, indem auch Kolonieen, die zweifelsohne aus einer einzigen Zelle hervorgegangen waren, den entsprechenden Typus voll und ganz einhielten und zum Ausdruck brachten.

Das kulturelle Verhalten. Die Milch wurde von der Mehrzahl der a- und b-Stämme nach einem gewissen Zeitraume in den transparenten Zustand versetzt. Es stellten sich in der Dauer der dazu nötigen Zeit Differenzen heraus, die hauptsächlich von der Größe der verwandten Reagensröhrchen resp. von der Menge der in ihnen enthaltenen Milch abhängig waren: In den großen Reagensgläsern mit bedeutender Milchmenge, die anfangs ausschließlich für den Bedarf des Hygienischen Institutes hergestellt wurden, dauerte der Prozeß des Transparentwerdens 27—49 Tage, in einem Falle (Abel a_1) sogar 88 Tage; in den kleinen Vidal-Röhrchen mit viel geringerer Milchmenge, die späterhin zur allgemeinen Anwendung kamen, konnte man die Transparenz in einer 4—5mal kürzeren Zeit von 5—7 Tagen beobachten. Parallele Versuche mit ein und denselben Kulturen führten das besonders klar vor Augen. Abweichend verhielten sich Gärtner Halle und Abel. Der b-Stamm von Gärtner Halle brachte nämlich die Milch nach 15 Tagen zur Gerinnung, wie das auch bei der ursprünglichen Mischkultur der Fall war, wogegen die beiden a-Stämme keinerlei Veränderungen herbeiführten. Abel a_1 ließ die Milch auch noch am 26. Tage unverändert, während Abel b schon am 5. Tage deutliche Transparenz zeigte. Beim Vergleiche der beiden b-Stämme Halle und Abel sieht man, wie unabhängig die biochemischen Eigenschaften vom betreffenden Kolonieentypus sind.

Die Lackmusmolke wurde von allen Tochterstämmen zuerst mehr oder weniger gerötet, um dann in einem Zeitraum von 2—6 Tagen meist intensiv blau gefärbt zu werden. Nur der Stamm Abel a, der schon der Milch gegenüber sich als schlechter Alkalibildner herausgestellt hatte, ließ auch die Lackmusmolke dauernd gerötet, und noch am 15. Tage mußte letztere als „kirschrot" bezeichnet werden; zugleich fiel auch der

1) Bei strenger Einhaltung der von Burri aufgestellten Regeln läßt sich die Methode nach einiger Uebung ganz gut ausführen; am meisten Schwierigkeiten bereitet anfangs die Abpassung richtiger Aufschwemmungsverhältnisse der zu untersuchenden Bakterien in Tusche. Doch kommen auch Zwischenfälle vor, die von Burri unvorhergesehen, den Erfolg der Untersuchung wesentlich beeinträchtigen können. Ich will es nicht unterlassen, an dieser Stelle auf eine Fehlerquelle, die mir viel Mühe und Verdruß verschafft hat, aufmerksam zu machen. Wenn man nämlich das Reagensröhrchen mit der Tuschelösung mehrmals öffnet und vor der Tuscheentnahme jedesmal den Rand des Röhrchens abglüht, so scheint sich die Tusche an der Oberfläche zu verdicken; jedenfalls gelingen die bis dahin tadellos auszuführenden Punkte mit einemmal nicht mehr; man sucht den Grund in der Gelatine, der Feder, zumal die Punkte die Eigentümlichkeit eines doppelten Federabdruckes aufweisen, und an die Tusche denkt man zuletzt. Man braucht aber nur das mehrmals angewandte Tuscheröhrchen beiseite zu stellen und zeitweilig ein anderes zu nehmen, um dem Uebel abzuhelfen. Später ist auch das abgestellte Röhrchen wieder gebrauchsfähig.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Umstand auf, daß Abel a die Lackmusmolke nicht getrübt hatte: Dieselbe blieb dauernd klar.

Der Traubenzuckeragar wurde unter Gasbildung in 24 bis 48 Stunden in Stücke zersprengt oder er wies zum mindestens Gasblasen und kleinere Sprünge auf; diese schwächere Art der Gasbildung traf man häufiger bei den a-Stämmen an.

In Neutralrotagar wurde der Farbstoff fast durchweg in 2 bis 6 Tagen reduziert; bei einigen Kulturen blieb der Prozeß auf der Stufe der Fluoreszenz stehen oder man fand nur Gasblasen ohne Veränderung des Farbstoffes vor.

Der Barsiekow Tr.-Z. wurde in den ersten 24 Stunden zur Rötung und Gerinnung gebracht; manchmal wurde die Gerinnung erst nach 48 Stunden fester und ausgeprägter. Der Barsiekow M.-Z. blieb unverändert oder wurde in seltenen Fällen leicht gebläut.

Im kulturellen Verhalten konnten somit keine durchgreifenden Unterschiede für die zwei Typen der aus den Mischkulturen herausgezüchteten Tochterstämme festgestellt werden; im allgemeinen verhielten sich alle Stämme wie echte Enteritisbakterien; einzelne Ausnahmen betrafen wie den Typus a, so auch den Typus b.

Agglutinatorisches Verhalten. Die agglutinablen Eigenschaften der a- und b-Stämme wurden mit den schon vorhandenen Seris geprüft, es wurden aber zu diesem Zwecke auch noch neue Sera mit Hilfe einzelner Tochterstämme, deren agglutinogenes Vermögen auf diese Weise ebenfalls zutage trat, erzeugt.

Bei der Prüfung der a- und b-Stämme mit den typischen Gärtner- und Paratyphus-B-Seris stellte es sich heraus, daß die agglutinablen Eigenschaften der Tochterstämme nicht von dem ihnen zukommenden Typus a oder b abhängig waren, sondern

Tabelle XVI.

Serum: Gärtner Kalbsleber, mit lebenden Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
Typus a:							
Paratyphus B Bock	±	L	—	—	—	—	—
„ „ 121 a_1	L	—	—	—	—	—	—
„ „ 121 a_2	+	+	+	—	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Sollmann	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus a_1	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus a_2	—	—	—	—	—	—	—
Gärtner Abel	++	++	+++	+++	++	+	L
„ Halle a_1	—	—	—	—	—	—	—
„ Halle a_2	L	—	—	—	—	—	—
Typus b:							
Paratyphus B Bock	+	—	—	—	—	—	—
„ „ 121	+	+	±	L	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	+	+	±	—	—	—	—
„ „ Sollmann	+	+	±	L	—	—	—
„ „ Mäusetyphus	—	—	—	—	—	—	—
Gärtner Abel	+++	+++	+++	++	+	+	L
„ Halle	±	—	—	—	—	—	—

Vergleiche auch Tabelle III.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lediglich durch die Gruppenzugehörigkeit der entsprechenden Mischkultur bedingt wurden.

Als Beispiel für das Verhalten Gärtner-Seris gegenüber sei die Tabelle XVI angeführt. Der einzige typische Gärtner-Stamm unter meinen Mischkulturen war Abel: Seine beiden Tochterstämme a und b werden ungeachtet der verschiedenen Kolonieenform gleich hoch agglutiniert. Dagegen fallen die drei Tochterstämme der Gärtner-Halle-Kultur allesamt aus, wie das auch der Mischkultur in toto eigen war. Bei den Paratyphus-B-Kulturen kann man einen gewissen Unterschied im Verhalten der a- und b-Stämme konstatieren: Wenn es sich auch nur um eine Mitagglutination handelt, so betrifft letztere doch in der Hauptsache die b-Stämme. Besonders deutlich kommt das bei den Kulturen Sollmann und Brion-Kayser zum Ausdruck. Dieser Charakter der b-Stämme äußert sich indirekt auch im Verhalten zu Typhusserum, welches, wie wir wissen, eine bedeutende Einwirkung gerade auf Gärtner-Stämme hat, während die Paratyphus-B-Bacillen weniger beeinflußt werden. Wie nun Tabelle XVII zeigt, werden die

Tabelle XVII.

Serum: Typhus, von der Untersuchungsstation des Hygienischen Institutes.

Kultur	Verdünnung				
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
Typus a:					
Paratyphus B Bock	L	—	—	—	—
„ „ 121 a_1	L	—	—	—	—
„ „ 121 a_2	+	+	+	+	L
„ „ Brion-Kayser	L	—	—	—	—
„ „ Sollmann	L	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus a_1	L	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus a_2	±	L	—	—	—
Gärtner Abel	L	L	—	—	—
„ Halle a_1	+	±	L	—	—
„ Halle a_2	++	+	±	L	—
Typus b:					
Paratyphus B Bock	+	+	L	—	—
„ „ 121	++	++	+	+	L
„ „ Brion-Kayser	++	+	+	±	L
„ „ Sollmann	++	++	+	+	L
„ „ Mäusetyphus	±	—	—	—	—
Gärtner Abel	+++	+++	++	+	L
„ Halle	++	++	±	L	—

Die Agglutination vielfach atypisch; vergleiche auch Tabelle VII.

b-Stämme durchweg höher als die a-Stämme, und dazu recht stark agglutiniert; sogar beim typischen Gärtner-Stamme Abel bleibt der a-Stamm weit hinter dem Schwesternstamm b zurück. Somit muß man in den Grenzen einer Mitagglutination den b-Stämmen in höherem Grade als den a-Stämmen Gärtner-Eigenschaften zuschreiben, wenn es sich auch meist dabei um eine atypische Klümpchenbildung handelt.

Für das Verhalten zu typischen Paratyphus-B-Seris gibt die Tabelle XVIII einen genügenden Ueberblick. Als typische Vertreter der Paratyphus-B-Gruppe sind die Mischkulturen 121, Brion-Kayser und Sollmann zu nennen: Die Tochterstämme dieser Kulturen werden ungeachtet ihrer verschiedenen Kolonieenformen gleichmäßig hoch und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XVIII.
Serum: Paratyphus B Achard, mit abgetöteten Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung					
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
Typus a:						
Paratyphus B Bock	+	+	+	L	L	—
„ „ 121 a_1	+++	+++	+++	+++	++	+
„ „ 121 a_2	+++	+++	+++	+++	++	+
„ „ Brion-Kayser	++	++	++	++	+	+
„ „ Sollmann	+++	+++	+++	+++	+++	++
„ „ Mäusetyphus a_1	±	L	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus a_2	L	—	—	—	—	—
Gärtner Abel	±	±	L	—	—	—
„ Halle a_1	L	—	—	—	—	—
„ Halle a_2	±	±	L	—	—	—
Typus b:						
Paratyphus B Bock	+	+	+	L	—	—
„ „ 121	+++	+++	+++	++	+	+
„ „ Brion-Kayser	+++	+++	+++	++	+	±
„ „ Sollmann	+++	+++	+++	+++	+++	++
„ „ Mäusetyphus	+	+	+	+	+	—
Gärtner Abel	—	—	—	—	—	—
„ Halle	L	—	—	—	—	—

Vergleiche auch Tabelle V.

stark agglutiniert. Die Mischkulturen Bock und Mäusetyphus, die an und für sich viele Abweichungen aufwiesen, zeigen auch in ihren Tochterstämmen ein ungleichmäßiges Verhalten. Bei den Gärtner-Kulturen Abel und Halle finden wir eine Mitagglutination, die hauptsächlich die a-Stämme betrifft, dagegen die b-Stämme unberührt läßt. Während die b-Stämme eine höhere Beeinflussung durch

Tabelle XIX.
Serum: Paratyphus B Aertryck, mit abgetöteten Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung							
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	1:16000
Typus a:								
Paratyphus B Bock	±	L	L	—	—	—	—	—
„ „ 121 a_1	+	±	L	L	L	—	—	—
„ „ 121 a_2	±	L	L	—	—	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	+	L	L	—	—	—	—	—
„ „ Sollmann	±	±	±	L	L	—	—	—
„ „ Mäusetyph. a_1	+++	+++	+++	++	+	±	L	—
„ „ Mäusetyph. a_2	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+
Gärtner Abel	+	±	L	L	—	—	—	—
„ Halle a_1	L	L	—	—	—	—	—	—
„ Halle a_2	+	±	L	L	—	—	—	—
Typus b:								
Paratyphus B Bock	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ 121	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Sollmann	L	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+
Gärtner Abel	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Halle	+	±	L	—	—	—	—	—

Vergleiche auch Tabelle X.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gärtner-Sera zeigten, scheinen die a-Stämme im allgemeinen der Paratyphus-B-Gruppe näher zu stehen. Besonders deutlich trat dieses Verhalten bei der Prüfung mit einigen atypischen Seris hervor, wie z. B. mit dem Aertryck-Serum auf Tabelle X. Dieses Serum hatte, wenn auch einen schwachen, so doch ausschließlichen Einfluß auf die Paratyphus-B-Kulturen, so daß eine Bevorzugung der a-Stämme durch dasselbe auf den entsprechenden Charakter ihrer agglutinablen Eigenschaften schließen läßt. Besonders auffallend ist das differente Verhalten der beiden Tochterstämme der Gärtner Abel-Kultur; wogegen das gleichmäßige Verhalten der drei Mäusetyphus-Stämme, die vom Aertryck-Serum hoch und spezifisch beeinflußt werden, wiederum die Unabhängigkeit der typischen Agglutination von Kolonieenvarianten deutlich vor Augen führt.

Im allgemeinen konnte ich also feststellen, daß das Auftreten von verschiedenen Kolonieenformen in ein und derselben Kultur keine Umwandlung ihrer agglutinablen Eigenschaften nach sich zieht; im Rahmen der Mitagglutination aber konnten gewisse Differenzen gefunden werden, die bei den a-Stämmen in höherem Maße Paratyphus B-, bei den b-Stämmen eher Gärtner-Charakter vermuten ließen.

Die Prüfung der agglutinogenen Funktionen bei den a- und b-Stämmen bestätigte die Beobachtungen über deren Agglutinabilität. Diejenigen a- und b-Stämme, welche aus typischen Mischkulturen herausgezüchtet worden waren, erwiesen sich auch in ihrem agglutinogenen Vermögen als Träger der spezifischen Eigenschaften ihrer Mutterkultur, ohne daß man an ihnen Unterschiede, die auf den betreffenden Kolonieentypus zurückzuführen wären, wahrnehmen konnte. Als Beispiel können die Tabellen XX und XXI dienen, aus denen das Verhalten eines Serums, das mit dem a-Stamme der typischen Paratyphus-B-Kultur Brion-Kayser ge-

Tabelle XX.

Serum: Paratyphus B Brion-Kayser a, mit abgetöteten Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
Gärtner Alt	—	—	—	—	—	—	—
„ Grünthal	L	—	—	—	—	—	—
„ Günther	—	—	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 4	L	—	—	—	—	—	—
„ Halle	++	+	L	—	—	—	—
„ Abel	L	—	—	—	—	—	—
„ Kalbsleber	L	L	—	—	—	—	—
Paratyphus B Breslau	+	±	L	—	—	—	—
„ „ Achard	+++	+++	++	++	+	+	L
„ „ Aertryck	+	+	±	±	L	—	—
„ „ Halle	+++	+++	+++	++	+	+	L
„ „ Bock	±	L	—	—	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	+++	+++	++	+	±	L	—
„ „ 121	+++	+++	+++	++	+	±	—
„ „ 0	+++	+++	++	++	+	+	L
„ „ Sollmann	+++	+++	+++	+++	++	+	L
„ „ Station	+++	+++	++	+	+	+	L
„ „ Moskau 3a	+++	+++	+++	+++	++	+	±
„ „ Mäusetyphus	±	±	±	L	L	—	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XXI.

Serum: Paratyphus B Brion-Kayser a, mit abgetöteten Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung					
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
Typus a:						
Paratyphus B Bock	±	±	L	—	—	—
„ „ 121 a_1	+++	+++	++	++	+	±
„ „ 121 a_2	+++	+++	++	++	+	±
„ „ Brion-Kayser	++	++	+	+	+	L
„ „ Sollmann	+++	+++	+++	++	++	+
„ „ Mäusetyphus a_1	±	±	±	L	L	—
„ „ Mäusetyphus a_2 [1])						
Gärtner Abel	+	±	L	—	—	—
„ Halle a_1	+	L				
„ Halle a_2	++	+	±	±	—	—
Typus b:						
Paratyphus B Bock	—	—	—	—	—	—
„ „ 121	+++	++	+	+	±	L
„ „ Brion-Kayser	+++	++	++	+	±	L
„ „ Sollmann	+++	++	++	+	+	±
„ „ Mäusetyphus	+	+	+	+	L	—
Gärtner Abel	L	—	—	—	—	—
„ Halle	++	+	L	—	—	—

wonnen worden war, zu ersehen ist. Meinen Sammlungsstämmen gegenüber erweist sich dieses Serum als echtes Paratyphus-B-Serum, das die Gärtner-Kulturen fast unberührt läßt, alle Paratyphus-B-Stämme aber hoch und stark agglutiniert. Diejenigen Paratyphus-B-Kulturen, die nur schwach beeinflußt werden, gehören zu den auch sonst sich abweichend verhaltenden Stämmen. Die Prüfung der a- und b-Stämme zeigte nun, daß ohne Unterschied der Kolonieenform alle Tochterstämme der typischen Paratyphus-B-Kulturen gleich hoch und stark agglutiniert wurden. Bei den übrigen Stämmen aber, die nur mitagglutiniert wurden, wie z. B. auch Gärtner Abel, fällt allerdings eine Bevorzugung der a-Stämme durch das genannte Paratyphus-B-Serum auf.

Das differente Verhalten der a- und b-Stämme kam — wiederum im Rahmen der Mitagglutination — besonders deutlich zum Ausdruck

Tabelle XXII.

Kultur	Verdünnung						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
1) Serum: Mischkultur Bock, mit toten Kulturen gewonnen.							
Bock Mischkultur	+++	+++	+++	+++	++	±	L
„ a-Stamm	+++	+++	+++	++	+	±	L
„ b-Stamm	+++	+++	+++	+++	++	+	L
2) Serum: Bock a-Stamm, mit toten Kulturen gewonnen.							
Bock Mischkultur	+++	+++	+++	++	+	—	—
„ a-Stamm	+++	+++	++	+	+	L	—
„ b-Stamm	+++	+++	+++	++	±	—	—
3) Serum: Bock b-Stamm, mit toten Kulturen gewonnen.							
Bock Mischkultur	+++	+++	+++	+++	++	±	—
„ a-Stamm	+++	+++	+++	++	+	±	L
„ b-Stamm	+++	+++	+++	+++	+	—	—

1) In allen Proben krümelige Aufschwemmung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei der Prüfung mit zwei Seris, die mit Hilfe je eines a- und b-Stammes der atypischen Paratyphus-B-Kultur Bock gewonnen worden waren. Des besseren Ueberblickes halber müssen wir die Beziehungen der Mischkultur Bock und ihrer beiden Tochterstämme zueinander, dann das Verhalten meiner Sammlungsstämme zu den mit Hilfe der drei Bock-Kulturen erzeugten Seris, und endlich dann die Einwirkung dieser Sera auf die a- und b-Stämme betrachten.

Die Sera, welche mit der Mischkultur Bock und deren Tochterstämmen a und b hergestellt worden waren, beeinflußten alle diese drei Kulturen so gleichmäßig, daß man ihr Verhalten fast identisch nennen könnte. Das führt die Tabelle XXII deutlich vor Augen.

Trotz dieser Gleichmäßigkeit im gegenseitigen Verhalten war die Beeinflussung durch diese drei Bock-Sera meiner Sammlungsstämme eine verschiedene.

Die Wirkung blieb allerdings — im Vergleiche mit dem homologen Titer — in den Grenzen einer Mitagglutination, immerhin ließen sich auch hier gewisse Differenzen wahrnehmen. Das mit der Mischkultur Bock gewonnene Serum bevorzugte merklich die Paratyphus-B-Stämme (Tabelle IX). Das Bock-a-Serum hatte eine ausschließliche, wenn auch schwache Wirkung nur auf die Paratyphus-B-Kulturen (Tabelle XXIII), wogegen das Bock-b-Serum beide Gruppen der Enteritisbakterien gleichmäßig beeinflußte und vielleicht sogar einige Gärtner-Stämme, besonders der Stärke der Agglutination nach, bevorzugte (Tabelle XXIV). Diese Eigentümlichkeiten der Sera gaben den Agglutinationsbefunden bei den a- und b-Stämmen ein entsprechendes Gepräge. Das Bock-a-Serum nämlich beeinflußte mit Ausnahme der Mäusetyphuskultur nur die a-Stämme (Tabelle XXV), das Bock-b-Serum dagegen zeigte eine Einwirkung wie auf den Typus a, so auch b mit der Neigung aber, manchen b-Stamm zu bevorzugen (Tabelle XXVI), während das Bock-

Tabelle XXIII.

Serum: Paratyphus B Bock a, mit abgetöteten Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung				
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
Gärtner Alt	—	—	—	—	—
„ Grünthal	—	—	—	—	—
„ Günther	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 4	—	—	—	—	—
„ Halle	L	—	—	—	—
„ Abel	—	—	—	—	—
„ Kalbsleber	—	—	—	—	—
„ Rumfleth 5	—	—	—	—	—
„ Haustedt 5	—	—	—	—	—
Paratyphus B Breslau	±	L	L	—	—
„ „ Achard	±	L	L	—	—
„ „ Aertryck	±	±	±	±	—
„ „ Halle	L	L	—	—	—
„ „ Bock	+++	+++	+++	++	+
„ „ Brion-Kayser	L	—	—	—	—
„ „ 121	L	L	—	—	—
„ „ 0	L	—	—	—	—
„ „ Sollmann	±	±	L	L	—
„ „ Station	L	—	—	—	—
„ „ Moskau 3a	L	L	—	—	—
„ „ Mäusetyphus	±	±	±	L	L

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XXIV.

Serum: Paratyphus B Bock b, mit abgetöteten Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung					
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
Gärtner Alt	—	—	—	—	—	—
„ Grünthal	+	+	L	—	—	—
„ Günther	+	+	L	—	—	—
„ Rumfleth 4	+	±	—	—	—	—
„ Halle	++	+	L	—	—	—
„ Abel	+	L	—	—	—	—
„ Kalbsleber	+	±	—	—	—	—
„ Rumfleth 5	—	—	—	—	—	—
„ Haustedt 5	—	—	—	—	—	—
Paratyphus B Breslau	+	L	—	—	—	—
„ „ Achard	+	±	L	L	—	—
„ „ Aertryck	±	—	—	—	—	—
„ „ Halle	L	—	—	—	—	—
„ „ Bock	+++	+++	++	+	±	L
„ „ Brion-Kayser	±	L	—	—	—	—
„ „ 121	±	L	—	—	—	—
„ „ 0	±	L	—	—	—	—
„ „ Sollmann	L	L	—	—	—	—
„ „ Station	L	L	—	—	—	—
„ „ Moskau 3a	±	L	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus	L	—	—	—	—	—
Typhus Pichel	±	L	L	—	—	—
„ Seidel	±	L	—	—	—	—
Paratyphus A	+	L	—	—	—	—

Tabelle XXV.

Serum: Paratyphus B Bock a, mit abgetöteten Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung				
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
Typus a:					
Paratyphus B Bock	+++	+++	++	+	+
„ „ 121 a_1	±	L	L	L	—
„ „ 121 a_2	±	L	L	—	—
„ „ Brion-Kayser	±	L	L	—	—
„ „ Sollmann	±	L	L	L	L
„ „ Mäusetyphus a_1	±	±	L	L	L
„ „ Mäusetyphus a_2 [1])	±	L	—	—	—
Gärtner Abel	±	L	L	—	—
„ Halle a_1	L	L	—	—	—
„ Halle a_2	—	—	—	—	—
Typus b:					
Paratyphus B Bock	+++	+++	+++	++	±
„ „ 121	—	—	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	—	—	—	—	—
„ „ Sollmann	L	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus	+	+	+	±	±
Gärtner Abel	—	—	—	—	—
„ Halle	—	—	—	—	—

Mischkultur-Serum bei beiderseitiger Beeinflussung eher auf manchen a-Stamm stärker einwirkte.

1) In allen Proben krümelige Aufschwemmung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XXVI.
Serum: Paratyphus B Bock b, mit abgetöteten Kulturen gewonnen.

Kultur	Verdünnung				
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
Typus a:					
Paratyphus B Bock	+++	+++	+++	++	+
„ „ 121 a_1	+	L	—	—	—
„ „ 121 a_2	+	L	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	±	L	—	—	—
„ „ Sollmann	L	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus a_1	L	—	—	—	—
„ „ Mäusetyphus a_2	L	—	—	—	—
Gärtner Abel	±	L	—	—	—
„ Halle a_1	±	L	—	—	—
„ Halle a_2	++	+	±	L	—
Typus b:					
Paratyphus B Bock	+++	+++	+++	+++	+++
„ „ 121	±	L	—	—	—
„ „ Brion-Kayser	+	±	L	—	—
„ „ Sollmann	±	L	L	—	—
„ „ Mäusetyphus	±	—	—	—	—
Gärtner Abel	+	L	—	—	—
„ Halle	+	±	L	—	—

Aus diesen Versuchen ersieht man, erstens, daß im Rahmen einer schwachen Mitagglutination bei den a-Stämmen eher Paratyphus-B, bei den b-Stämmen eher Gärtner-Eigenschaften angedeutet sind; zweitens, daß diese leicht angedeuteten Charaktere auch im antigenen Verhalten von Tochterstämmen atypischer Mischkulturen zutage treten.

Das sind die einzigen schwachen Differenzen, die in Verbindung mit dem einen oder dem anderen Kolonieentypus beobachtet werden konnten. Aber auch diese Unterschiede weichen von den scharf umgrenzten Agglutinationsbefunden, die Sobernheim und Seligmann an ihren Mischkulturen erheben konnten, insofern ab, als bei mir die angedeuteten Gärtner-Eigenschaften bei den b-Stämmen (mit den hellen, kreisrunden Kolonieen), die Paratyphus-B-Charaktere aber bei den a-Stämmen (mit den gezackt-gefurchten Kolonieen) gefunden wurden, während Sobernheim und Seligmann gerade die umgekehrten Verhältnisse in prägnanter Weise feststellen konnten.

Die a- und b-Stämme erfuhren eine weitere Analyse dadurch, daß einzelne Vertreter des a- und b-Typus in Tochterkolonieen zerlegt wurden und letztere einer Agglutinationsprüfung mit verschiedenen Seris unterworfen wurden. Auch führte ich mehrere Castellanische Versuche aus, um die gegenseitigen Absorptionsverhältnisse zwischen Mischkultur und den entsprechenden Tochterstämmen feststellen zu können, wie z. B. Tabelle XXVII zeigt. Doch ließen sich mit Hilfe auch dieser Methoden keine durchgreifenden Differenzen zwischen Typus a und b bestimmen, gewissen kleinen Schwankungen im Einzelfalle konnte aber keine Bedeutung beigelegt werden. Da diese Versuche zum größten Teile an denjenigen Mischkulturen und deren Tochterstämmen ausgeführt wurden, die im

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XXVII.
Serum: Paratyphus B Bock, mit abgetöteten Kulturen gewonnen.

Serum	Kultur	Verdünnung				
		1:100	1:200	1:400	1:800	K
Serum absorbiert mit dem Stamm Bock a	Stamm Bock a	—	—	—	—	—
	„ „ b	L	—	—	—	—
	„ „ Orig.	±	L	—	—	—
Serum absorbiert mit dem Stamm Bock b	Stamm Bock a	L	—	—	—	—
	„ „ b	L	—	—	—	—
	„ „ Orig.	L	—	—	—	—
Serum absorbiert mit dem Stamm Bock Orig.	Stamm Bock a	—	—	—	—	—
	„ „ b	—	—	—	—	—
	„ „ Orig.	—	—	—	—	—

Laufe der Zeit, wie schon oben mitgeteilt, eine gewisse Umwandlung ihrer Kolonieenformen durchmachten, so erlangen die negativen Resultate eine besondere Bedeutung: die Unabhängigkeit wichtiger biologischer Eigenschaften resp. des agglutinatorischen Verhaltens von den jeweils anzutreffenden Kolonieenformen tritt noch schärfer und deutlicher vor Augen.

Als Ausnahme von dieser Regel könnte das Verhalten der Mäusetyphuskultur erscheinen. Als nämlich der ursprünglich von mir festgestellte flach-gezackte Kolonieentypus (a_1) einen Umschlag in die helle, kreisrunde Form erkennen ließ, wurde die Mäusetyphuskultur von dem Paratyphus-B-Serum Achard, welches bis dahin keine Wirkung ausübte, nun bis 1:2000 agglutiniert. Die getrennte Prüfung der drei Tochterstämme bewies auch die vorzügliche Beeinflussung des b-Stammes. Doch muß diese Agglutinabilität nicht so sehr der neuen Kolonieenform, als hauptsächlich der Verstärkung des betreffenden Achard-Serums, dessen Titer während dieser Zeit von 1:4000—1:16000 angestiegen war, zugeschrieben werden: erstens erreichte die Einwirkung im Vergleiche mit dem homologen Grenztiter und mit der hohen Beeinflussung der übrigen Paratyphus-B-Stämme doch nur den Grad einer Mitagglutination; zweitens wurden andere Kulturen, die bis dahin beim Achard-Serum ebenfalls ausgefallen waren, nunmehr auch beträchtlich mitagglutiniert, ohne daß man eine Umwandlung der Kolonieenformen feststellen konnte (wie z. B. bei Aertryck). Für diese Annahme würde auch der Umstand sprechen, daß ein anderes typisches Paratyphus-B-Serum Halle mit einem niedrigeren Titer 1:4000 zu derselben Zeit den Mäusetyphus, wir auch Aertryck-Stamm ganz unberührt ließ (Tabelle VI). Wenn also mit dem Auftreten einer neuen Kolonieenform (der hellen, kreisrunden = b) bei der Mäusetyphuskultur keine direkte Wiederkehr typischer Paratyphus-B-Eigenschaften verbunden war, so bleibt im Rahmen der unspezifischen Mitagglutination doch der Widerspruch bestehen, daß hier durch ein Paratyphus-B-Serum ein b-Stamm beeinflußt wurde, wo sonst doch bei den a-Stämmen vorzugsweise Paratyphus-B-Charaktere angedeutet sein sollten. Doch bildet die Mäusetyphuskultur in dieser Beziehung nicht die einzige Ausnahme: auch in den Grenzen der Mitagglutination läßt sich eben keine durchgreifende Differenzierung der a- und b-Stämme durchführen. Dort aber, wo es sich um eine starke und typische Beeinflussung durch ein für die Mäusetyphuskultur spezifisches Serum handelt, da verstreichen die Differenzen zwischen den einzelnen Tochter-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stämmen endgültig und alle werden sie hoch und typisch bis zum homologen Titer hinauf agglutiniert (s. Tabelle XIX).

Im Anschlusse an die Besprechung der a- und b-Stämme müssen noch 2 Kulturen, Aertryck und Moskau 3a, berücksichtigt werden: denn gerade diese gaben Sobernheim und Seligmann den Anstoß zu ihren interessanten Beobachtungen über die Umwandlung agglutinabler Eigenschaften in Verbindung mit dem Auftreten bestimmter „atypischer" Kolonieenformen. Der Paratyphus-B-Stamm Aertryck hat schon früher eine eingehende Darstellung erfahren; hier sei nur erwähnt, daß sein Kolonieentypus (a_2), der der „atypischen" Form von Sobernheim und Seligmann entspricht, keine Wandlung durchmachte und daß neben dem fast völligen Schwunde der agglutinablen Paratyphus-B-Eigenschaften keinerlei Gärtner-Charaktere beobachtet werden konnten. Der Stamm Moskau 3a wurde von Sobernheim und Seligmann aus der ursprünglichen Mischkultur Moskau III, die neben wenigen „typischen" überwiegend „atypische" Kolonieen aufwies, als Vertreter der letzteren herausgezüchtet. Mit dem „atypischen" Aussehen seiner Kolonieen war eine doppelseitige Agglutinabilität wie für Paratyphus-B-, so auch für Gärtner-Sera bis zur Titergrenze verbunden. Bei meinen Versuchen entsprachen die vorgefundenen Kolonieenformen den Beschreibungen Sobernheims und Seligmanns und glichen dem von mir mit a_1 bezeichneten Typus. Die Agglutinationsprüfung ergab aber abweichende Resultate: alle Gärtner-Sera beeinflußten den

Tabelle XXVIII.
Stamm Moskau 3a.

Datum	Serum und Titer	Verdünnung zu							
		1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	1:16 000
27. VI.	Gärtner Station (4000)	—	—	—	—	—	—	—	—
1. VIII.	„ Rumfleth 4 (8000)	L	—	—	—	—	—	—	—
3. VIII.	„ Kalbsleber (8000)	L	—	—	—	—	—	—	—
29. VII.	„ Günther (3200)	—	—	—	—	—	—	—	—
6. X.	„ Alt (2000)[1])	+	±	±	L	—	—	—	—
27. X.	„ „ „	±	L	L	L	—	—	—	—
2. XII.	„ „ „	L	L	—	—	—	—	—	—
17. X.	„ Rumfleth 5 (4000)	—	—	—	—	—	—	—	—
29. XI.	„ Halle (8000)	—	—	—	—	—	—	—	—
16. XI.	Typhus Station (8000)	L	L	—	—	—	—	—	—
1. XII.	Paratyphus A Station (4000)	+	L	—	—	—	—	—	—
1. VII.	Paratyph. B Station (5000	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
23. VII.	„ „ Achard (4000)	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
30. IX.	„ „ „ (8000)	+++	+++	+++	+++	+++	++	L	—
2. XII.	„ „ „ (16 000)	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±
21. X.	„ „ Bock (8000)	+++	+++	+++	++	L	—	—	—
22. XII.	„ „ „ „	+	+	+	±	L	—	—	—
24. XI.	„ „ Aertryck (16 000)	+	+	±	L	L	—	—	—
28. XI.	„ „ Halle (4000)	+++	+++	+++	+++	++	±	±	—
20. XI.	„ „ Bock a (2000)	L	L	—	—	—	—	—	—
10. XI.	„ „ „ b (4000)	±	L	—	—	—	—	—	—
22. XII.	„ „ Brion-Kayser a (4000)	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—

1) Das Verhalten des Serum Gärtner Alt ist atypisch; man vergleiche die Tabelle XIII.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stamm Moskau 3a gar nicht oder nur kümmerlich bis 1:200, während die echten Paratyphus-B-Sera ihn durchweg bis zur homologen Titergrenze agglutinierten. Der Stamm Moskau 3a erwies sich als eine typische Paratyphus-B-Kultur, obschon die flach gezackte Kolonieenform keinerlei Wandlung durchmachte.

Qualitativ ließen sich in der Agglutination der a- und b-Stämme keine prinzipiellen Unterschiede feststellen: wie die einen, so auch die anderen ergaben bald eine mehr flockige bis feinflockige, bald eine mehr körnige bis feinkörnige Agglutination. Zum Teil hing der Charakter der Agglutination von den Seris ab, wie z. B. bei dem Bock-a-Serum und besonders dem Aertryck-Serum, wo fast alle Kulturen durchweg eine feinkörnige Beschaffenheit der Agglutination zeigten; zum Teil spielten hier die Eigentümlichkeiten der Kulturen selbst eine Rolle: so ergaben alle drei Stämme der Gärtner-Halle-Kultur stets eine feinkörnige Agglutination, wogegen die beiden Bock-Stämme meist flockig reagierten.

Neben den verschiedenen oben angeführten agglutinablen Eigenschaften der a- und b-Stämme muß noch eines Unterschiedes zwischen diesen beiden Arten gedacht werden, der mehr auf einer mechanischen Grundlage beruht, aber gerade bei den Agglutinationsversuchen stets zutage trat. Die a-Stämme zeigten eine mehr brüchige Kulturschicht, ließen sich nicht ordentlich in die Oese nehmen und oft nur schwer verreiben; einmal aufgeschwemmt, hatten sie aber die Neigung spontan auszufallen und die darüberstehende Flüssigkeit vollkommen zu klären, ohne daß eine Agglutination stattgefunden zu haben brauchte. Schritt man nach der üblichen Zeitdauer zur Durchmusterung der Agglutinationsproben, so fielen einem vor allen Dingen die oft durchgehends aufgehellten Reihen der a-Stämme in die Augen; bei den b-Stämmen war stets eine starke Agglutination nötig, damit eine volle Ausflockung stattfinden könnte, aber auch hier trübten sich die Röhrchen mit steigenden Verdünnungen sehr bald.

Nach dieser eingehenden Analyse, die ich den Beziehungen zwischen bestimmten Kolonieenformen der Enteritisbakterien und ihren wichtigen biologischen Eigenschaften gewidmet habe, tritt vor uns die natürliche Frage von der Bedeutung der festgestellten Tatsachen.

Wir haben gesehen, daß aus der Kolonieenform allein an und für sich keine Rückschlüsse auf das Verhalten wichtiger biologischer Funktionen gemacht werden können. Wie in kultureller, so auch in agglutinatorischer Hinsicht läßt sich kein Zusammenhang mit irgendeiner bestimmten Kolonieenform feststellen. Der Gärtner-Gruppe kommt ebensowenig ein einheitlicher Kolonieentypus zu, wie der Paratyphus-B-Gruppe; doch kann man von einer für jede von ihnen vorherrschenden Form sprechen. Die Kolonieenform wird durch den Wachstumsmodus der betreffenden Bakterien auf Agarplatten bedingt und beweist in der Regel eine große Konstanz. Doch kann aus unbekannten Gründen auch eine Umwandlung der ursprünglichen Kolonieenform und ein Umschlag in eine andere stattfinden. In so einem Falle können in einer und derselben Kultur mehrere Wachstumsformen gleichzeitig angetroffen werden, so daß der Eindruck einer Mischkultur entsteht. Doch ist hier die Bezeichnung „Mischkultur" nicht im Sinne einer Symbiose zweier oder mehrerer artverschiedener Bakterien zu verstehen: es handelt sich nur um das Nebeneinander mehrerer Wandlungsformen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eines und desselben Bakterienstammes. Die aus solchen Mischkulturen getrennt herausgezüchteten Tochterstämme bewahren in der Regel die ihnen zukommende Kolonieenform und lassen auf Grund derselben zwei Haupttypen (a und b) unterscheiden. Das agglutinatorische Verhalten der Tochterstämme ist vorwiegend durch die Eigenschaften der Mutterkultur bedingt und weist keine durchgreifenden Differenzen für die beiden Haupttypen der Kolonieen auf; im Rahmen der Mitagglutination treten aber für diese beiden gewisse Unterschiede an den Tag. Der Paratyphus-B-Gruppe kommt als vorherrschende Kolonieenform der Typus a zu: bei den Mischkulturen dieser Gruppe, die beide Kolonieenformen aufweisen, unterfallen einer Mitagglutination durch Gärtner-Sera hauptsächlich die Tochterstämme vom Typus b; in der Gärtner-Gruppe umgekehrt ist der Kolonieentypus b der vorwiegende: die Erscheinungen der Mitagglutination durch Paratyphus-B-Sera betreffen hier gerade die a-Stämme. Somit steht in jedem Falle die nicht-spezifische Mitagglutination mit der atypischen, artverschiedenen Kolonieenform in Verbindung. Die Wandlung des ursprünglichen Kolonieentypus und das Auftreten einer neuen artfremden Form scheint also auf gewisse Vorgänge in den betreffenden Kulturen hinzuweisen, die in einer Alteration der spezifischen Atomgruppierungen bestehen mögen. Bei der Mehrzahl der untersuchten Mischkulturen betrafen diese Anzeichen einer inneren Umgestaltung nur die agglutinablen Eigenschaften, dazu im Rahmen einer nicht-spezifischen Mitagglutination, während das sonstige Verhalten als durchaus typisch und spezifisch bezeichnet werden muß. Bei der in Degeneration begriffenen und in mancher Hinsicht atypischen Mischkultur Paratyphus B Bock erstreckte sich die Umwandlung auch auf die antigenen Funktionen: der Stamm a, der augenscheinlich die ursprüngliche Kolonieenform repräsentiert, weist sehr abgeschwächt, aber in voller Reinheit ausschließlich Paratyphus-B-Charakter auf (Tabelle XXIII). Bei dem Stamm b, der eine für die Paratyphus-B-Gruppe artverschiedene Kolonieenform innehat, finden wir eine tiefgreifende Umwandlung vor, die neben einer Abschwächung eine derartige Abänderung der agglutinogenen Substanz erkennen läßt, daß die Mitagglutination in gleichem Maße die Paratyphus-B-, wie die Gärtner-Bacillen betrifft (Tabelle XXIV). Somit treffen wir bei dem Bock-b-Serum ein analoges Verhalten an, wie es das Serum Gärtner-Alt zeigt: im ersten Falle handelt es sich um einen Paratyphus-B-Stamm mit artfremdem Kolonieentypus b, im zweiten um eine Gärtner-Kultur mit artfremdem Kolonieentypus a, in beiden Fällen aber um eine derartig hohe Mitagglutination der Nachbargruppe, daß die üblichen Grenzen verwischt werden. Hier steht die artverschiedene Kolonieenform in augenscheinlichem Zusammenhange mit dem Umwandlungsprozesse, den wir bei den genannten Kulturen als Degeneration aufgefaßt haben, doch ist sie nicht die unbedingte Voraussetzung eines solchen: die in Degeneration begriffene Kultur Aertryck weist nur eine typische Kolonieenform auf. Möglicherweise aber wird mit der artverschiedenen Kolonieenform der degenerative Prozeß eingeleitet, wie das z. B. bei der Paratyphus-B-Kultur Breslau, die unter den Angehörigen ihrer Gruppe allein nur den Kolonieentypus b vertritt (s. Tabelle XV) und die zugleich die ersten Anzeichen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einer Umwandlung aufweist, der Fall wäre. Zeitweilig treten dann die Erscheinungen der nicht-spezifischen Mitagglutination, die mit der artverschiedenen Kolonieenform zusammenhängt, in den Vordergrund, wie bei Gärtner Alt und Paratyphus-B-Bock b; doch macht sich das Bestreben zum Sonderverhalten immer mehr geltend: die spezifische Beeinflussung blaßt ab, die unspezifische Mitagglutination tritt ganz zurück und nur die deutlich ausgesprochenen Sondercharaktere geben der Kultur das einzige Gepräge.

Aus dem Gesagten kann man den Schluß ziehen, daß die verschiedenen Kolonieenarten der Enteritisbakterien Wandlungsformen, die ineinander übergehen können, darstellen; daß bestimmten Kolonieenarten in gewissen Fällen die Bedeutung eines ersten Anzeichens von beginnender Degeneration zukommt; daß aber die dadurch bedingten Abweichungen im agglutinatorischen Verhalten die Grenzen der Mitagglutination nicht überschreiten und mehr als zeitweilige Begleiterscheinung im Werdegang der Ausartung zu betrachten sind.

Schlußbetrachtung.

Meine Untersuchungen haben mir unter vielen ganz gesetzmäßigen Befunden, die eine scharfe Trennung der Enteritisgruppe in Gärtner- und Paratyphus-B-Bacillen bestätigten, auch eine Reihe von Abweichungen aufgedeckt, wo die Identifizierung verschiedener Stämme auf größere oder geringere Schwierigkeiten stieß. Diese sich abweichend verhaltenden Stämme konnte ich mit größter Wahrscheinlichkeit auf ursprünglich typische Gärtner- resp. Paratyphus-B-Stämme zurückleiten, so daß das gegenwärtige Stadium als eine auf einer Umwandlung beruhende Abart der Enteritisbakterien betrachtet werden muß. Die einmal vorgefundenen Eigenschaften der Kulturen blieben in der Regel unverändert: im Laufe der ganzen Untersuchungszeit, die sich über 7 Monate erstreckt, habe ich an keiner Kultur irgendwelche augenfälligen Wandlungen ihres agglutinatorischen Verhaltens beobachten können. Ich konnte weder eine Wiederkehr verloren gegangener Agglutinabilität noch einen plötzlichen Schwund derselben feststellen, wie das in den Versuchen Sobernheims und Seligmanns bei den Kulturen Rumfleth und Haustedt der Fall war. Keine einzige Kultur bot mir das Bild einer Diskrepanz zwischen Agglutininbindung und Agglutininbildung, wie das Sobernheim und Seligmann an dem Stamme Aertryck, Mäusetyphus u. a. beobachten konnten. Ich habe auch keine Kulturen, die als Doppelstämme gleichzeitig auf Gärtner- und Paratyphus-B-Sera reagiert oder einen direkten Umschlag der agglutinablen Eigenschaften aus einem Gruppentypus in den anderen aufgewiesen hätten, finden können, wie das bei den Kulturen Mäusetyphus, Moskau u. a. der Fall war. Die zwei Hauptkolonieentypen der Enteritisbakterien auf Agarplatten, die Sobernheim und Seligmann als „typisch“ und „atypisch“ bezeichneten und in deren Erscheinen oder Schwinden sie die Ursache zu tiefgreifenden Umwandlungen im agglutinatorischen Verhalten, ja zu einem direkten Umschlag der Agglutinabilität aus einem Gruppentypus in den anderen sahen, erwiesen sich bei meinen Versuchen als

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wandlungsformen, die ineinander übergehen können, ohne den Charakter der Kultur zu ändern, die aber oft als Anzeichen beginnender Ausartung dieser Kultur zu betrachten sind. Auch die von Prof. Sobernheim mir eingesandten Kulturen (Rumfleth 4, Rumfleth 5, Haustedt 5, Aertryck, Mäusetyphus, Moskau) ließen keine der oben genannten Erscheinungen erkennen, sondern ordneten sich meinen übrigen Befunden an. Mir fehlen somit jegliche Anhaltspunkte zur Annahme einer derartigen Umwandlung, die als wirklicher Uebergang einer Bakterienart in die andere imponieren würde, wie das Sobernheim und Seligmann in ihrer ersten Arbeit aussprechen und durch ihre weitere Mitteilung, die eine Nachprüfung der Agglutinationsbefunde vermittelst der Komplementbindungsreaktion darstellt, bestätigen. Sie sagen hier: „Es gibt jedoch Stämme, die ebenso wie durch die Agglutination auch durch die Komplementbindung nicht identifiziert werden können, die vielmehr ihrem ganzen Wesen nach als Uebergangsstadien vom Paratyphus zum Gärtner-Typus gekennzeichnet sind.“ Die von mir als abweichend befundenen Stämme, und zwar wie die Vertreter der Gärtner-, so auch diejenigen der Paratyphus-B-Gruppe zeigten dagegen die augenscheinliche Neigung, sich in ihrer Wandlung vom Grundtypus zu entfernen und mehr ein Sonderverhalten an den Tag zu legen.

Die Annahme einer Umwandlung führt auch mich zur Frage der Variabilität der Bakterien, die man heutzutage wohl als eine feststehende, den biologischen Gesetzen der Evolution und Degeneration entsprechende Tatsache anerkennen muß; doch sind die Grenzen dieser Wandlungsfähigkeit noch keineswegs mit Sicherheit bestimmt. In den Beobachtungen von Sobernheim und Seligmann, wie auch in einigen anderen (Burri, Jakobsen) sind die Grenzen der Umwandlungsmöglichkeit so weit gezogen, daß man fast geneigt wäre, von einer außerordentlichen Willkür der Bakterien in den jeweils an den Tag gelegten Eigenschaften zu sprechen; die Agglutinabilität für verschiedene Sera schwindet und kehrt in kurzem Zeitraume wieder, sie ändert ihren Charakter und schlägt in einen anderen Gruppentypus um; eine einzige Bakterienzelle entwickelt sich in ihrem Wachstum, Schritt für Schritt vom Beobachter verfolgt, zu zwei Abarten mit verschiedenem biochemischen und agglutinablen Verhalten. Im Gegensatze zu diesen mehr sprunghaften und willkürlichen Veränderungen wichtiger biologischer Eigenart bei Bakterien stehen die von mir beobachteten Abweichungen in der Enteritisgruppe, wo es sich allem Anscheine nach um eine sehr langsame Wandlung einiger Stämme handeln mußte, so daß im Laufe der ganzen Beobachtungszeit kaum irgendwelche weiteren Fortschritte oder Veränderungen in der einmal eingeschlagenen Richtung nachzuweisen waren. Diese Umwandlung, die mit einem Verluste ursprünglich vorhanden gewesener, artbestimmender Eigenschaften einherging und mit staunenswerter Gleichmäßigkeit die gesamte Kultur im ganzen betraf, ließ sich am besten im Sinne einer Degeneration deuten. Die degenerativen Umwandlungen hatten in einigen Fällen eine mutmaßliche Lockerung der spezifischen Atomgruppierungen zur Folge, so daß im Rahmen der Mitagglutination eine höhere gegenseitige Beeinflussung der beiden Enteritisgruppen, als gewöhnlich, zutage

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

trat. Doch scheinen diese Beziehungen temporärer Natur zu sein, sie schieben sich gelegentlich in die Stufenfolge der Entwicklungsreihe, die vom typischen Vertreter der Enteritisbakterien zur agglutinatorisch sich abweichend verhaltenden Sonderart führt, ein. In diesen Fällen, wo an Stelle der geschwundenen ursprünglichen Gruppeneigenschaften eine neue scharf umschriebene Eigenart vor Augen tritt, könnte natürlich mit allem Vorbehalt auch von einer Umwandlung im Sinne der Evolutionstheorie die Rede sein. Ob aber die Evolutionserscheinungen in der Mikroorganismenwelt sich so unverhältnismäßig schnell abspielen und zu einem direkten, ich möchte fast sagen, sprunghaften Uebergange einer Bakterienart in die andere führen können, wie das aus manchen Beobachtungen hervorgeht — das sind Fragen, deren endgültige Entscheidung der Zukunft vorbehalten bleibt.

Zum Schlusse dieser Arbeit erachte ich es als eine ganz besonders angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Prof. R. Pfeiffer meinen aufrichtigsten Dank für die freundliche Aufnahme und gastliche Unterkunft am Hygienischen Institute wie für die Anregung dieses Themas auszusprechen.

Zusammenfassung.

1) Mit Hilfe der Agglutinationsreaktion konnte in der Mehrzahl der untersuchten Enteritisstämme eine scharfe Trennung der Gärtner- und Paratyphus-B-Gruppe festgestellt werden.

2) Einige Enteritisstämme ließen sich agglutinatorisch schwerer oder gar nicht identifizieren, während das kulturelle Verhalten unverändert erschien.

3) Diese atypischen Kulturen konnten mit größter Wahrscheinlichkeit als in der Degeneration begriffene, aus ursprünglich typischen Enteritisbakterien hervorgegangene Stämme aufgefaßt werden; damit war der indirekte Beweis für die Wandlungsfähigkeit der Bakterien gegeben.

4) Im Laufe der ganzen Beobachtungszeit konnten keinerlei Veränderungen im Verhalten der typischen, auch keine weiteren Umwandlungserscheinungen bei den atypischen Stämmen wahrgenommen werden, so daß jeder direkte Beweis für eine in kürzerer Zeit sich abspielende Umwandlung fehlt.

5) Zwischen den verschiedenen Kolonieenarten der Enteritisbakterien auf Agarplatten und dem agglutinatorischen Verhalten konnte kein durchgreifender Zusammenhang gefunden werden; der Gärtner-Gruppe kommt ebensowenig wie der Paratyphus-B-Gruppe ein einheitlicher Kolonieentypus zu.

6) Das Auftreten mehrerer Kolonieenformen in einer Kultur scheint auf den Beginn einer Umwandlung, einer Degeneration hinzuweisen; in Verbindung damit zeigen die getrennt herausgezüchteten Tochterstämme, die im allgemeinen die Eigenschaften der Mutterkultur tragen, im Rahmen der Mitagglutination gewisse Differenzen, die auf eine Alteration des spezifischen Rezeptorenapparates schließen lassen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literaturverzeichnis.

Bock, F., Untersuchungen über Bakterien aus der Paratyphusgruppe. (Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 24. Beih. 1906. p. 238.)
Boddaert, R. J., Ueber die Umwandlung agglutinatorischer Eigenschaften des Paratyphus-B-Bacillus. (Dtsche med. Wochenschr. 1910. p. 1026.)
Bofinger und Dieterlen, Beiträge zur Kenntnis der Fleischvergiftungserreger. (Dtsche med. Wochenschr. 1910. p. 1602.)
Burri, Das Tuschepunktverfahren. Jena (G. Fischer) 1909.
Burri u. Anderjew, Vergleichende Untersuchungen über einige Coli- und Paratyphusstämme. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. H. 3/4.)
— u. Düggeli, Beiträge zur Systematik der Coli-Aërogenes-Gruppe etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. H. 2.)
Eisenberg u. Volk, Untersuchungen über die Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 40. 1902. p. 155.)
Hübener, E., Fleischvergiftung und Paratyphusinfektionen (ihre Entstehung und Verhütung). Jena (Fischer) 1910.
Jakobsen, Mitteilungen über einen variablen Typhusstamm. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. H. 3/4.)
Kolle u. Hetsch, Die experimentelle Bakteriologie etc. 2. Aufl. 1908.
Kreissl, Technik und Methodik der klinischen Serodiagnose. (Handb. d. Technik etc. von Kraus u. Levaditi, Bd. 2. 1909. p. 623.)
Kutscher, K., Paratyphus. (Handb. von Kolle-Wassermann, Ergänzungsbd. 1. Abt. XV. 1907. p. 655.)
Paltauf, R., Die Agglutination. (Handb. von Kolle-Wassermann, Bd. 4. Abt. I. 1904. p. 645.)
Scheller, R., Experimentelle Beiträge zur Theorie und Praxis der Gruber-Vidalschen Agglutinationsprobe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. p. 100.)
Sobernheim, G., Ueber Enteritisbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Ref. Abt. I. Orig. Bd. 44. [3. Tagung d. fr. Verein. f. Mikrobiologie.] 1909. p. 127.)
— u. Seligmann, Beobachtungen über die Umwandlung etc. (Dtsche med. Wochenschrift. 1910. p. 351.)
— — Beiträge zur Biologie der Enteritisbakterien. (Zeitschr. f. Immun. Bd. 6. 1910. p. 401.)
— — Weitere Untersuchungen etc. (Zeitschr. f. Immun. Bd. 7. 1910. p. 342.)
Volk, Ueber Agglutination. (Handb. von Kraus u. Levaditi, Bd. 2, 1909. p. 623.)

Nachdruck verboten.

Ueber einen atypischen Typhusstamm.

[Aus dem Pathologischen Institut der Universität (Direktor: Prof. Dr. Chiari) und der Bakteriologischen Abteilung der Hygienisch-chemischen Untersuchungsstelle des XV. Armeekorps (Vorstand: Oberstabsarzt Dr. Hormann).]

Von Oberarzt Dr. **Fromme,** Straßburg i. E.

Bei der im Auftrage von Herrn Prof. Chiari ausgeführten bakteriologischen Bearbeitung von Leichenmaterial im Pathologischen Institut der Universität hatte ich Gelegenheit, einen Typhusstamm zu isolieren, der besonders in kultureller Beziehung ein abweichendes Verhalten zeigte. In der Literatur sind mir, abgesehen von einer Arbeit von Jacobsen (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. p. 208) Beobachtungen, die sich mit den vorliegenden vergleichen ließen, nicht bekannt geworden, so daß auch aus diesem Grunde ihre Mitteilung gerechtfertigt ist.

Das Material, aus dem die Kulturen gewonnen wurden, stammte von der Leiche einer 49-jährigen weiblichen Person, die zuletzt in der hiesigen Medizinischen Klinik an den Erscheinungen des Unterleibstyphus krank gelegen hatte. Die klinische Diagnose lautete: Typhus

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

abdominalis mindestens seit 4 Wochen. Cholecystitis seit 16 Tagen. Pneumonie der linken Lunge, debilitas cordis. Typhusbacillen nachgewiesen im Blut, im Stuhl und im Sputum. Die Sektion wurde am 5. März 1910 durch Herrn Prof. Chiari vorgenommen, dem ich für die freundliche Ueberlassung des folgenden Befundes zu Dank verpflichtet bin.

Gl., 49 Jahre alt, Ehefrau, Lumpenhändlerin, gestorben 4. März 1910 ½8 Uhr morgens. Der Körper, 165 cm lang, kräftig gebaut mit kräftiger Muskulatur, ziemlich fettreich, blaß, mit einem Stich ins Gelbe. Auf der Rückenseite dunkle Hypostasen. Totenstarre wenig ausgesprochen. Haar braun. Pupillen ziemlich enge. Hals und Thorax lang. Brustdrüsen ziemlich klein. Unterleib wenig ausgedehnt, mit alten Striae. — Die weichen Schädeldecken blaß. Der Schädel 51 cm im Umfang, durchschnittlich 8 mm dick, ziemlich kompakt. Dura wenig gespannt. In ihrem Sinus flüssiges Blut. Die basalen Arterien zart, ebenso die inneren Meningen. Diese wie das Gehirn ziemlich blaß. — Zwerchfell rechts an der 4., links an der 5. Rippe. Schilddrüse klein, von mittlerem Blutgehalte. Schleimhaut der Halsorgane ohne pathologische Veränderungen. Beide Lungen frei. Die hintere Hälfte des rechten Unterlappens und der ganze linke Unterlappen pneumonisch hepatisiert. Das übrige Lungenparenchym lufthaltig, überhaupt blutreicher. Im Herzbeutel ein Eßlöffel klaren Serums. Herz normal, ebenso die großen Gefäße. Oesophagus blaß. Die peribronchialen Lymphdrüsen normal. — In der Bauchhöhle kein abnormaler Inhalt. Das Peritoneum zart. Die Leber gewöhnlich groß, blaß. Die Gallenblase groß. In ihr helle Galle, die klar erscheint. Ihre Mucosa normal. Die Milz auf das Doppelte vergrößert, ziemlich blutreich, weich. Die Nieren gewöhnlich, groß, ziemlich blaß, etwas weicher. Ihre Kapsel etwas fester haftend. Die Nebennieren gewöhnlich beschaffen. Die Schleimhaut der Harnblase gerötet. Genitale normal bis auf seichte Ulceration im hinteren Fornix der Vagina. — Im Magen gallig gefärbte, wäßrige Flüssigkeit. Seine Schleimhaut blaß. Im Dünndarme gallig gefärbte schleimige Massen. Im ganzen Ileum den Peyerschen Platten entsprechend stark gelbgrüne nekrosierte beetartige Infiltrate. Der gleiche Befund an vielen Solitärfollikeln des Ileums und des Dickdarms bis in das Rectum hinab. Auch im Processus vermiformis zahlreiche Follikel größer, blutreich und gelockert. Die Mesenterialdrüsen intumesziert bis auf die Größe von 4 ccm, markig. Aorta abdominalis zart.

In mikroskopischen Schnitten der Gallenblase konnte Entzündung nicht nachgewiesen werden.

Die pathologisch-anatomische Diagnose lautete: Typhus abdominalis in stadio necroseos. Tumor lienis acutus. Pneumonia bilateralis.

Im Hygienisch-bakteriologischen Institut wurden Typhusbacillen nachgewiesen: im Duodenal-, im Jejunuminhalt, im Leber-, Milz-, Mesenterialdrüsen- und Nierensaft. Die Untersuchung von Magen-, Ileum- und Colon-ascendens-Inhalt fiel negativ für Typhusbacillen aus.

Unabhängig von diesen Untersuchungen waren im Pathologischen Institut Ausstriche von Galle-, Milz-, Leber- und Lungengewebe auf Schrägagarröhrchen angelegt worden. Nach einer 24-stündigen Bebrütung zeigte sich in den mit Galle- und Milzsaft beimpften Röhrchen ein Wachstum von Reinkulturen typhusähnlicher Kolonieen, in dem mit Lebersaft beschickten Röhrchen neben typhusähnlichen einige unverdächtige Kolonieen. Aus dem Lungengewebe waren gelbe und weiße Staphylokokken-, sowie Pneumokokken-, keine typhusähnlichen Kolonieen aufgegangen. Die als typhusähnlich gefundenen Kolonieen bestanden aus lebhaft beweglichen Stäbchen, die in Typhusserum 1:10000 (bis zum Titer des Serums) sofort agglutinierten. Nach Verweilen bei 37° war am anderen Tage sogar eine angedeutete Agglutination in einer Serumverdünnung von 1:100000 wahrzunehmen, während die Kochsalzlösung gar keinen agglutinierenden Einfluß ausgeübt hatte. Dieser Befund wurde in gleicher Weise an den aus der Galle und den 2 Organen gezüchteten Stämmen erhoben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mußte zunächst die hohe Agglutinabilität der isolierten Stämme bemerkenswert erscheinen, die also über den Titer des Serums hinausging, so fiel weiter auf, daß bei der zur endgültigen Sicherstellung der Diagnose angesetzten Serie die Lackmusmolke nicht den für Typhusbacillen charakteristischen Umschlag in Rot aufwies. Sie hatte auch nach dreitägiger Bebrütung ihre ursprüngliche neutrale Farbe behalten. Da sich fernerhin zeigte, daß die Kolonieen bei der zweiten und weiteren Verimpfung auf Agarröhrchen ein für Typhusbacillen äußerst kümmerliches Wachstum annahmen, schlossen sich Untersuchungen an, die auf der Bakteriologischen Abteilung der Hygienisch-chemischen Untersuchungsstelle des XV. Armeekorps ausgeführt wurden.

Durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Jacob, Assistenten von Herrn Prof. Moritz, bin ich in den Besitz einer Kultur gelangt, die aus dem Sputum der betreffenden Person gezüchtet war. Desgleichen danke ich Herrn Dr. Gaehtgens vom Hygienisch-bakteriologischen Institut für die Ueberlassung zweier Kulturen, die aus dem Blut, sowie aus einer Mesenterialdrüse, stammen. Diese 3 Kulturen, und die 3 von mir aus Leber, Milz und Galle gezüchteten Stämme sind meist nebeneinander untersucht worden. Es sei vorweg bemerkt, daß alle 6 Stämme sich in ihrem Verhalten durchaus übereinstimmend erwiesen haben. Im folgenden beschränkt sich infolgedessen die Beschreibung ihrer kulturellen Eigenschaften auf einen Stamm.

Agar: Nach 24-stündiger Bebrütung zeigte sich dem Impfstrich entlang zartes Wachstum wasserheller Kolonieen, in ihrem Aussehen vergleichbar einer Streptokokkenkultur; nach 48 Stunden ein flacher, keineswegs üppiger und irgendwie Typhuskolonieen ähnlicher Rasen. Die Kulturmenge genügte nicht zur Agglutination. Auf Platten erreichten die Kolonieen einen Durchmesser von $1-1^1/_2$ mm.

Die Kulturen bestanden aus beweglichen kurzen Stäbchen, allerdings nicht mehr mit jener lebhaften Beweglichkeit, wie sie die Ausgangskultur aufwies. Die Stäbchen verharrten zum Teil in pendelnder Bewegung an derselben Stelle; zum Teil durchschlängelten und durchpurzelten sie das Gesichtsfeld. Es bot sich das Bild dar, wie man es öfters bei Typhuskulturen sieht, denen die lebhafte, „Ameisenzügen" ähnliche Beweglichkeit der Stäbchen fehlt. Gefärbt handelte es sich um gramnegative kurze Stäbchen, vielfach von kokkenähnlicher Form.

Neutralrotagar und Milch wurden nicht verändert.

In Peptonbouillon entwickelte sich nach 24-stündiger Bebrütung eine schwache gleichmäßige Trübung.

Lackmusmolke blieb meist durchaus neutral, während die Kontrollstämme am anderen Tage eine ausgesprochene Rötung verursacht hatten. Erst nach 3- und mehrtägiger Bebrütung stellte sich bei einem Teil der Stämme geringe Säuerung ein. Der gänzliche Mangel der Säurebildung war nicht konstant, indem gelegentlich jeder der 6 Stämme geringe Säuerung zeigte. Immerhin blieb der Grad der Säurebildung gegenüber den Kontrollen bei allen Stämmen in deutlicher Weise zurück.

Auf Gelatineschrägröhrchen entwickelte sich ein zartes, aber im Gegensatz zum Agar üppigeres Wachstum typhusähnlicher Kolonieen.

Auf Drigalski-Conradi-Agar zeigten sich nach 24 Stunden längs des Striches zarte körnige Kolonieen, die den Nährboden färberisch entweder gar nicht veränderten, oder deutlich röteten, während die auf derselben Platte angelegten Kontrollstämme wie Typhuskulturen wuchsen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Endonährboden bot den Stämmen günstigere Wachstumsverhältnisse. Sie entwickelten sich in üppiger, von dem Vergleichsstamm nicht zu unterscheidender Weise.

Es sei angefügt, daß bei Uebertragung von üppig wachsenden Kulturen der Endo-Platte auf gewöhnlichem Agar wiederum jenes kümmerliche Wachstum auftrat. Auch längeres Fortzüchten auf Endo-Nährboden hatte auf eine Aenderung im Wachstum auf anderen Nährsubstraten keinen Einfluß.

Auf Grund dieser Beobachtungen galt es zunächst, die bakteriologische Diagnose Bacillus typhi überhaupt sicherzustellen, ganz abgesehen von der für die Typhusnatur des Stammes sprechenden Herkunft.

Ebenso wie die 6 aus verschiedenen Organen gezüchteten Stämme kulturell übereinstimmten, konnte auch agglutinatorisch ein einheitliches Verhalten beobachtet werden. Die mit 24-stündigen Endo-Agarkulturen angesetzten Reihen ergaben mit dem zur Verfügung stehenden Serum in einer Verdünnung von 1:10000 (entsprechend dem Titer) durchweg charakteristische Agglutination, in der Verdünnung von 1:100000 im Gegensatz zu den Kontrollen (NaCl und Normalkaninchenserum 1:100) eine Andeutung von Agglutination. Der Kontrolltyphusstamm ließ diese Andeutung vermissen. Die Resultate wurden, wie hier üblich, nach Brutschrankaufenthalt am anderen Tage abgelesen.

Zur Gewinnung eines Immunserums erhielt ein Kaninchen abgetötete Kulturen des aus der Galle gezüchteten Stammes intravenös injiziert. Der Titer des gewonnenen Serums betrug 1:10000. Mit diesem Serum wurden vergleichende Untersuchungen angestellt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle veranschaulicht.

Das in der Tabelle mit „altem Serum" bezeichnete Vergleichsserum war aus Trockenserum hergestellt; es war übrigens nicht identisch mit dem zu Anfang der Untersuchungen benutzten Serum. Um die Emulsionsverhältnisse der Serumverdünnungen möglichst gleichartig zu gestalten, wurden von derselben Bakterienkochsalzaufschwemmung jedesmal je $^1/_2$ ccm mit $^1/_2$ ccm Serumverdünnung vermischt. Die Kulturen waren 24 Stunden bei 37° auf Endo-Agar gewachsen.

Bei Gelegenheit dieser Untersuchungen wurde zugleich der Frage des zeitlichen Verlaufs des Agglutinationsvorgangs Aufmerksamkeit geschenkt. Die Röhrchen blieben bis zu 4 Tagen bei 37° stehen. Die zu verschiedenen Zeiten festgestellten Agglutinationswerte sind in der Tabelle verzeichnet.

Im allgemeinen deckt sich das Verhalten der 3 herangezogenen Stämme Galle, Milz und Kontrolltyphus gegenüber dem Immunserum. Also der Gallestamm verhielt sich dem homologen Serum gegenüber bezüglich der Intensität der Agglutination in gleicher Weise wie gegenüber dem Typhusserum. Das gleiche Verhalten zeigt der Milzstamm. Andererseits agglutiniert das Galleimmunserum den Kontrolltyphusstamm in nahezu der geichen Titerhöhe wie das Kontrolltyphusserum.

Auch gegenüber dem zeitlichen Verlauf des Agglutinationsvorgangs finden sich für beide Typen übereinstimmende Verhältnisse. Es hat sich ergeben, daß die Agglutination nach 2-stündigem Brutschrankaufenthalt nicht als abgeschlossen gelten kann. Bei Vorhandensein geringer Agglutininmengen kommt eine Bindung unter Umständen erst nach mehrtägigem Verweilen bei einer Temperatur von 37° zustande. Diese Beobachtung, die für beide Typen zutrifft, steht in Widerspruch mit manchen in der Literatur zu findenden Aussprüchen. Ihre Bedeutung liegt auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kultur	Immunserum	1:1000 nach sofort	3 Std.	1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	1:5000 nach sofort	3 Std.	1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	1:10 000 nach sofort	3 Std.	1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen
aus Galle	neues	+	++×	+++×	+++×	+++×	+++×	—	++×	+++×	+++×	+++×	+++×	—	—	++×	+++×	+++×	+++×
	altes	—	++×	+++×	+++×	+++×	+++×	—	++×	+++×	+++×	+++×	+++×	—	—	++×	+++×	+++×	+++×
aus Milz	neues	+	+	+++×	+++×	+++×	+++×	—	+	+++×	+++×	+++×	+++×	—	—	+×	+++×	+++×	+++×
	altes	—	++×	+++×	+++×	+++×	+++×	—	++×	++	+++×	+++×	+++×	—	+	+	++×	++×	++×
Kontroll-typhus-kultur D.	neues	+	++×	+++×	+++×	+++×	+++×	—	+	++	+++×	+++×	+++×	—	+	++×	+++×	+++×	+++×
	altes	—	++×	+++×	+++×	+++×	+++×	—	++×	+++	+++×	+++×	+++×	—	+	++×	+++×	+++×	+++×

Kultur	Immunserum	1:20 000 nach sofort	3 Std.	1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	1:40 000 nach sofort	3 Std.	1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	1:80 000 nach sofort	3 Std.	1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	1:160 000 nach sofort	3 Std.	1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen
aus Galle	neues	—	—	+?	+×	+×	+×	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	altes	—	—	+?	+	+×	+×	—	—	—	+?	+?	+?	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
aus Milz	neues	—	—	—	+×	+×	+×	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	+?	—	—	—	—	—	—	—
	altes	—	—	—	+	+×	+	—	—	—	—	—	+?	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontroll-typhus-kultur D.	neues	—	—	+×	++×	++×	++×	—	—	—	+×	+×	+×	—	—	—	—	+?	+?	—	—	—	—	+?	—
	altes	—	+	++×	++×	++×	++×	—	—	+	++×	++×	++×	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Kontrollen NaCl und Normalkaninchenserum 1:100 waren stets negativ. + = Agglutination deutlich, ++ = dieselbe stark, +++ = dieselbe sehr stark, × = dieselbe deutlich, ×× = dieselbe stark, die beiden letzteren auch nach starkem Schütteln des Röhrchens.

Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

auf praktischem Gebiete: wenn es sich z. B. um den Nachweis geringer Agglutininmengen bezw. geringer Agglutininrezeptoren handelt. Auch bei der Feststellung des Titers eines Serums wird man je nach der Einwirkungsdauer der Agglutinine auf die zugehörigen Bakterien zu verschiedenen Werten kommen.

Aus diesen Untersuchungen geht jedenfalls eindeutig hervor, daß sich die fraglichen Kulturen durch die Agglutination von Typhusbacillen nicht unterscheiden lassen.

Zur Sicherstellung der Diagnose Typhusbacillen dienten weiterhin Absättigungsversuche. Gallestammimmunserum und Kontrolltyphusserum zu je 2 ccm in der Verdünnung 1:100 wurden mit den homologen Bakterien bezw. mit Kontrolltyphusbacillen zusammengebracht. Nach Absättigung der Agglutinine trat bei gekreuzter Beschickung mit Bakterien in keinem der 4 Röhrchen eine Agglutination auf. Dieses Ergebnis spricht ebenfalls für die Identität der fraglichen Bakterien mit Typhusbacillen.

Der Pfeiffersche Versuch konnte wegen der mangelnden Pathogenität der Kulturen für Meerschweinchen nicht herangezogen werden. Zur Feststellung der Pathogenität wurden folgende Versuche vorgenommen. 3 Meerschweinchen erhielten je 1 ccm einer 48-stündigen Bouillonkultur des Galle-, Blut- bezw. Sputumstammes intraperitoneal injiziert. Alle Tiere blieben gesund. Das mit „Sputumstamm" behandelte Tier wurde nach 8 Tagen getötet. Außer einer geringfügigen Gefäßinjektion der Dünndärme waren abweichende Veränderungen der Organe nicht vorhanden. Gewebsausstriche von Milz und Leber auf Endo-Agar erwiesen sich als steril. Einem vierten Meerschweinchen wurde 1 ccm einer 10-tägigen Bouillonkultur von „Blutstamm" injiziert. Nach 48 Stunden ließen sich aus dem Peritonealsaft noch Reinkulturen von Bakterien züchten, die sich kulturell wie die verimpften Kulturen verhielten. Das Tier blieb gesund.

Was schließlich die Widerstandsfähigkeit der Kulturen gegen äußere Einflüsse anlangt, so ließen sich aus Agarröhrchen, die 8 Monate lang bei Zimmertemperatur und Tageslicht unter einfachem Watteverschluß gestanden hatten und stark eingetrocknet waren, fast durchweg mit Erfolg auf Agar verimpfen.

Es sei hervorgehoben, daß sowohl diese so erhaltenen Kulturen, wie auch die durch häufiges Ueberimpfen fortgezüchteten Stämme bis jetzt eine Aenderung in ihrem von Typhusbacillen abweichenden Verhalten nicht gezeigt haben.

Auf Grund der vorstehenden Untersuchungen sind die in Frage stehenden Bakterien als Typhusbacillen anzusprechen, die von dem typischen Verhalten der Typhusbacillen vor allem durch ein auffallend gehemmtes Wachstum auf den meisten gebräuchlichen Nährböden abweichen.

Es war nun interessant, zu untersuchen, weshalb diese Wachstumshemmung gerade auf dem Endo-Agar aufgehoben wurde. Agar allein hemmte, auch der Zusatz von Milchzucker änderte nichts an der Wachstumsintensität: Es war das Natriumsulfit, das die Hemmung völlig aufhob. Wie vergleichende Untersuchungen zeigten, stellte sich das günstigste Wachstum bei einem Na_2SO_3-Gehalt von etwa 0,25 Proz. ein, entsprechend den Mengenverhältnissen im Endo-Agar, wenn auch zwischen 0,1—1,0 Proz. noch gute Kolonieen-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

entwickelung zu beobachten war. Außerhalb dieser Grenzen wurde das Wachstum kümmerlich.

Eine Erklärung für diese eigentümlichen Verhältnisse zu finden, waren weitere Untersuchungen in Aussicht genommen, die aus äußeren Gründen zu einer späteren Zeit erst fortgesetzt werden konnten. Inzwischen erschienen die Jacobsenschen „Mitteilungen über einen variablen Typhusstamm (Bacterium typhi mutabile), sowie über eine eigentümliche hemmende Wirkung des gewöhnlichen Agars, verursacht durch Autoklavierung". Jacobsen isolierte bei Gelegenheit einer Typhusepidemie in Dänemark unter im ganzen 50 zur Untersuchung eingeschickten Proben von Faeces und Blut 2mal typhusähnliche Bakterien, die von dem typischen Verhalten der Typhusbacillen abwichen. Sie zeigten nämlich auf Drigalski-Conradi-Agar gar kein bezw. bei ganz geringem Kristallviolettzusatz ein verspätetes Wachstum, in Mannitbouillon eine verspätete Gärung und weiterhin nur ganz schwache Agglutinabilität mit dem vorhandenen Typhusimmunserum. Bei den folgenden Untersuchungen bestätigte es sich immer wieder, daß Kulturen dieser Art — durch das Burrische Tuschepunktverfahren als rein gesichert —, in Bouillon oder in einem anderen Substrat gezüchtet, bei Ueberführung auf Drigalski-Conradi-Agar und auch auf gewöhnlichen Agar nach 1-tägiger Bebrütung als ganz feine, kaum sichtbare Kolonieen wuchsen, die nach Verlauf von 3 Tagen etwa Stecknadelkopfgröße erreichten. Zwischen diesen fanden sich nun regelmäßig 5—10 große klare Kolonieen, die sich kulturell und auch serologisch (Agglutinabilität $^1/_{10000}$) wie Typhusbacillen verhielten. Es gelang nicht, diese typische Form auf die ursprüngliche schwach wachsende Form zurückzuführen. Diese sprungweise entstehende Eigenschaft des Stammes, auf Drigalski-Conradi-Agar in normaler Weise zu wachsen, spricht Jacobsen als eine echte Mutation im Sinne von de Vries an. Es sei angefügt, daß die Agglutinabilität der schwach wachsenden Art im Laufe der Monate die Titerhöhe des Serums erreichte.

Als Ursache für das gehemmte Wachstum sieht Jacobsen die wiederholte Sterilisierung des Agars im Autoklaven an. Auf Agar, der nur 15 Minuten im Autoklaven sterilisiert war, blieb die Wachstumshemmung aus. Diese Hemmung nun wurde vollständig aufgehoben durch Zusatz verschiedener Stoffe, z. B. $Na_2S_2O_3$, SO_2, Na_2SO_3, NH_4SH, teilweise auch durch eine Reihe organischer Verbindungen. So zeigten die Stämme auf Endo-Agar das gewöhnliche Wachstum der Typhusbacillen.

Der Jacobsensche Stamm verhält sich also in mancher Beziehung übereinstimmend mit der von mir besprochenen Kultur: Beide wachsen auffallend kümmerlich auf Drigalski-Conradi-Agar, auf gewöhnlichem Agar, dagegen üppig auf Endo-Agar, bedingt durch die Anwesenheit des Natriumsulfits.

Bezüglich der Agglutination bestanden insofern Unterschiede, als meine Stämme von vornherein sehr ausgesprochen, die Jacobsenschen dagegen schwach im Typhusserum agglutinierten. Dann sei hervorgehoben, daß die Wachstumshemmung bei den Ausgangskulturen meiner Stämme weniger hervortrat, sondern erst bei Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden recht zum Ausdruck kam. Auch der Umstand, daß bei einer auf seiten des Hygienisch-bakteriologischen Instituts vorgenommenen Isolierung der Bakterien ein abweichendes Verhalten der Erreger nicht aufgefallen war, spricht für eine später erworbene Eigenschaft bezw. für eine den künstlichen Nährböden zuzuschreibende Einwirkung auf die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wachstumsfähigkeit dieser Typhusbacillen. Jacobsen dagegen hatte es offenbar mit Typhuskulturen zu tun, denen von vornherein der künstliche Nährboden nicht zusagte. Das kam zum Ausdruck in der geringen Zahl positiver Befunde des eingesandten Typhusmaterials. Unsere Stämme unterscheiden sich in dieser Beziehung wohl nur graduell.

Was den Nachweis der Ursache für das gehemmte Wachstum anlangt, so lag es nahe, anzunehmen, daß sie in der Beschaffenheit der künstlichen Nährböden zu suchen sei, weil das kümmerliche Wachstum erst im Verlaufe der Fortzüchtung sich einstellte. Die Beobachtung Jacobsens, daß die Wachstumshemmung auf einem nur 15 Minuten lang sterilisierten Agar aufgehoben war, konnte ich für meine Stämme nicht bestätigen. Auf Agar, der 10 Minuten im Autoklaven gestanden bezw. 15 Minuten im Wasserbad erhitzt war, entwickelte sich dasselbe gehemmte Wachstum wie auf den gewöhnlichen Agarplatten.

Immerhin muß zur Erklärung der Hemmung auch für meine Stämme zugegeben werden, daß der Erhitzungsprozeß, dem der Agar unterworfen wird, die zum üppigen Wachstum notwendigen Substanzen des Agars und vor allem die zugehörigen Eiweißstoffe des Nährbodens schädigt und dadurch ungünstige Wachstumsverhältnisse schafft. Es bleibt aber die Frage offen, welche Einflüsse den Stamm in seinen Anforderungen an das Nährsubstrat so anspruchsvoll gemacht haben.

Außer Natriumsulfit nun gibt es eine Reihe von Stoffen, welche ebenfalls, dem Nährboden zugesetzt, die Wachstumshemmung ganz oder teilweise aufzuheben vermögen. Wie Natriumsulfit verhielt sich Natrium subsulfuricum crist. Merck. Die Stämme zeigten das gleiche üppige Wachstum wie die auf derselben Platte angelegten Kontrolltyphuskulturen.

Ferner vermochte die Zugabe verschiedener Eiweißstoffe zum Agar teilweise oder völlige Aufhebung der Hemmung herbeizuführen. Auf etwa 15-proz. Menschenblutagar, Menschenblutserumagar entwickelte sich ein nahezu ebenso üppiges Wachstum, wie es die Kontrollen zeigten. Gewaschene Menschenblutkörperchen, in demselben Verhältnis zugesetzt, hemmten dagegen entsprechend dem gewöhnlichen Agar. Wie Menschenblut verhielt sich Kaninchenblut. Auch Asciteszusätze beeinflußten deutlich das Wachstum und vermochten in genügender Menge (35 Proz.) die Hemmung aufzuheben. Hühnereiweiß war fast gar nicht, dagegen Hühnereidotter in deutlicher Weise von Wachstum förderndem Einfluß.

In dieser Beziehung stimmen meine Ergebnisse im allgemeinen mit den Jacobsenschen überein.

Im Gegensatz zu Jacobsen habe ich bisher eine Entwickelung von Mutationskolonieen nicht beobachten können. Auf Drigalski-Conradi-Platten z. B. wuchsen auch nach vieltägiger Bebrütung immer nur Kolonieen desselben Aussehens.

Das Ergebnis der bisherigen Untersuchungen ist leider nicht befriedigend, da sich eine Erklärung für die Wachstumshemmung nicht gefunden hat. Nicht einmal gelang es, den Nachweis zu führen, daß die „Autoklavierung“ des Agars, wie Jacobsen für seinen Stamm feststellen konnte, für die Wachstumshemmung mitverantwortlich zu machen sei.

Weitere Beobachtungen in dieser Richtung sind für die Klärung der vorliegenden Frage erwünscht.

In der Praxis wird man auf ähnliche eigentümliche Wachstumsverhältnisse zu achten haben. Es ist wohl mit Sicherheit anzunehmen,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß Krankheitsfälle bakteriologisch unaufgeklärt blieben, weil die Erreger infolge ihres abweichenden biologischen Verhaltens dem Nachweise entgingen. Diese Erklärung würde den so häufig gehörten Vorwurf gegen die Unvollkommenheit der gebräuchlichen Untersuchungsmethoden zum Teil wenigstens zu entkräften imstande sein. Jedenfalls empfiehlt es sich auf Grund der vorstehenden Beobachtungen, zum Nachweis von Typhus- und auch wohl verwandten Bakterien Nährböden ausschließlich oder mitzuverwenden, die Substanzen wie Natriumsulfit enthalten, also z. B. Endo-Nährböden.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu der vorläufigen Mitteilung von A. Tedeschi und M. Napolitani „Experimentelle Untersuchungen über die Aetiologie des Sommerfiebers"

in Bd. 57, H. 3, p. 208 dieser Zeitschrift.

Von Privatdozent **R. Doerr,** Wien.

Tedeschi und Napolitani haben sich mit der Aetiologie des italienischen Sommerfiebers befaßt und berichten in einer vorläufigen Mitteilung über die erzielten Resultate.

Dabei werden die Untersuchungen, welche ich über die herzegowinisch-dalmatinischen Dreitagefieber (das Pappatacifieber) angestellt habe, in einer so eigenartigen Weise zitiert, daß ich mich veranlaßt sehe, den Sachverhalt klarzustellen. Es geschieht dies nicht in der Befürchtung, daß meine Priorität in dieser Angelegenheit von irgend jemandem in Zweifel gezogen werden könnte, da meine Arbeiten und ihr Inhalt hinlänglich bekannt sind, als vielmehr in der Absicht, das Vorgehen von Tedeschi und Napolitani zurückzuweisen.

Die Autoren schreiben:

„und ebenso war auch uns, die bereits im vorigen Jahre Untersuchungen über die Aetiologie dieses . . . . Fiebers eingeleitet hatten, beim Durchlesen der Monographie von Doerr, Franz und Taussig die nahezu vollständige Identität desselben mit dem durch Pappataci bedingten aufgefallen . . . ." Das könnte und muß den Leser auf den Gedanken bringen, daß Tedeschi und Napolitani zuerst an die Identität des italienischen Sommerfiebers mit dem von mir beschriebenen Pappatacifieber gedacht haben.

Nur schreibe ich in der von Tedeschi und Napolitani, wie sie selbst sagen, durchgelesenen Monographie folgendes: „Wir möchten aber mit allem Nachdruck darauf hinweisen, daß das Pappatacifieber gewiß nicht allein in den von uns bereisten Gegenden vorkommt" . . . . „In Italien kennt man die Krankheit seit langer Zeit; das Beste was darüber veröffentlicht wurde, findet sich in einer vor wenigen Wochen erschienenen Arbeit von Mennella . . . . Die ziemlich genaue Beschreibung der Symptome läßt keinen Zweifel bestehen, daß das italienische Sommerfieber und das herzegowinisch-dalmatinische Pappatacifieber eine Krankheit darstellt."

Tedeschi und Napolitani schreiben weiter: „Die Annahme der österreichischen Kommission — es sei der Krankheitserreger ein filtrier-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bares Gift — in Betracht ziehend, haben wir dieses fragliche Virus aus dem durch kleine Berkefeldsche Kerzen filtrierten Blutserum von am Sommerfieber Erkrankten am zweiten Krankheitstage, d. i. im Höhepunkt der Fieberkurve, bekommen." Mit diesem Material wurde nach vergeblichen Versuchen an Tieren „schließlich . . . . zur Anstellung von Versuchen an Menschen geschritten".

Der Leser, der die Arbeiten der österreichischen Kommission nicht kennt, muß natürlich glauben, daß dieselbe die Filtrierbarkeit des Virus nur faute de mieux angenommen, daß aber erst Tedeschi und Napolitani den experimentellen Nachweis geliefert haben.

Nun habe aber ich teils allein, teils in Gemeinschaft mit Russ die Uebertragbarkeit auf Menschen und den Filtrationsversuch durch Berkefeld-, Reichel- und Pukall-Filter bereits im Jahre 1908 angestellt und darüber im September 1908 auf der Naturforscherversammlung in Köln ausführlichen Bericht erstattet. Auch die anderen Versuche von Tedeschi und Napolitani, Färbung von Blutpräparaten nach Giemsa, Uebertragung der Krankheit durch die Stiche von Pappatacis, wurden alle bereits von mir ausgeführt, ja wir sind über die Dauer der Infektiosität des Krankenserums, über die Haltbarkeit und Resistenz des Virus, über die Ursache der beim Pappatacifieber beobachteten Immunität zu weitgehenderen Schlüssen gelangt. Auch bedienen sich Tedeschi und Napolitani in allen Details unserer Versuchsanordnung, ohne daß davon die geringste Erwähnung geschieht.

Das Angeführte mag zur Beurteilung der Sachlage genügen.

Nicht unerwähnt soll aber bleiben, daß sich die Autoren über die einschlägige Literatur nicht orientiert haben, sonst wäre ihnen nicht entgangen, daß Birt im Jahre 1910 meine Versuche auf Kreta und **Malta** wiederholt hat und zu denselben Resultaten wie ich gelangte. Er berichtete darüber, sowie über das refraktäre Verhalten der Versuchstiere (inkl. Affen) im März 1910, allerdings mit vollständig korrekter Angabe und genauer Zitierung meiner Resultate. Schließlich ist den Autoren auch die Arbeit, die ich mit Russ veröffentlicht habe, unbekannt, sowie die Mitteilung von Makeling.

Nachdruck verboten.

On the "species" of various Frog-Trypanosomes found in Japan.

[From the Imp. Gov. Inst. for Infect. Diseas. Tokyo, Japan (Director: Prof. Dr. S. Kitasato).]

By Dr. **M. Koidzumi.**

With 1 plate.

A good deal of difference exist between the Trypanosomes parasitic in mammalian blood and those occurring in avian, amphibian and piscine blood. The difference is so great that some authors, such as Lankester and Lühe, put forth the view that the Trypanosomes should be divided into two distinct genera. If morphological characters alone be taken as criteria, specific differences found among mammalian forms are very inconspicuous, so much so that sometimes they are unnoticeable, with

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

very few exceptions such as Trypanosoma theileri and Trypanosoma ingens. While, on the other hand, forms found parasitic in birds, amphibians and fishes are markedly pleomorphic; they are variable not only in their size, but in structure, external forms and other characters of systematic importance. In the former most of different species are not easy to distinguish morphologically from each other, while in the later different forms, though morphologically well differentiated, are not always systematically independent from each other, their identification is not an easy matter — many specimens should be observed before determining its systematic position. In fact, there are many species whose integrity has been doubted by many authors. Many incidental examinations have led me to the opinion that a careful comparative study of several forms would surely reduced the number of specific names of these parasites. Upon this idea I undertook to carry out a strict census of blood parasites of Japan where no such works have hitherto been done. As the first subject of the study I chose the Trypanosome found in common frogs — Rana temporaria, R. esculenta and R. rugosa.

In looking up literature on the Frog-Trypanosome nine specific names and six synonyms are found. It seems, however, a most prevalent opinion that the Frog-Trypanosomes found in Europe are to be diagnosed as only one species, i. e., Trypanosoma rotatorium. The conclusion arrived at through my study of forms found in Tokyo tallies exactly with this view.

Despite many descriptions and illustrations, the advocates of the above opinion do not seem to have sufficient data to convince every reader as to the singleness of the species. For example, much more descriptions might be desirable to understand that the forms, formerly described under the name of Trypanosoma rotatorium (Amoeba rotatoria) and Trypanosoma costatum (Paramaecium costatum) are really one and the same species. Though Danilewsky[1]) and Chalachinikow[2]), on the other hand, have made an attempt to classify the parasite into several types, yet the forms observed by them are not satisfactorily numerous, and detailed explanations of types and interrelation among them are lacking. At present, to accept their opinion we should have descriptions of main types, and discovery of transitional forms between hitherto known forms. My study was, therefore, directed to get a clearer insight as regards the above points. My labour was not without rewards. Many undescribed forms were met with. All of observed forms being arranged a complete series of metamorphosis were constructed, and I came to the conclusion that the morphological differences are invariably due to development.

I distinguished four main types, naming respectively Types A, B, C and D. They are of course connected by transitional forms.

Type A. The Trypanosomes of this type represent individuals at the first stage of metamorphosis. They are of typical mammalian Trypanosoma form, measuring from 40 to 60 microns in length and from 5 to 8 microns in breadth. The group may again be conveniently divided into two sub-divisions.

Sub-type Aa. Individuals of this sub-type are much rarer than that of the following sub-type. The body is small and slender provided

1) Biolog. Centralbl. Bd. 5. 1885; Zur Parasitologie des Blutes. 1889.
2) Recherches sur les parasites du sang. 1888.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

with a well developed undulating membrane and rather sharply attenuated extremities. The nucleus is round and lies rather anteriorly. The blepharoplast is found not far from the posterior end. In live condition it resembles Trypanosoma lewisi, especially in its mode of swimming. It is rare to see them wriggling. They usually swing their body actively and travel sluggishly through the plasm. They curve their body slightly in snake-fashion but not so strong as to assume an S-form. During in motion the free flagellum is directed forwards, but sometimes just the reverse (Fig. 1).

Sub-type Ab. Representatives of this sub-type resemble rather piscine forms than those found in mammalian blood. It is characterised of its slender body with a long and narrow undulating membrane and blunt ends. In stained preparations it assumes the form of a band ended abruptly, in contrast with the spindle shape of Sub-type Aa. The nucleus, commonly round but sometimes oval or elliptical, occupies the middle part of the body. In living state it can readily distinguished at a glance from the foregoing sub-type. They wriggle for a long time without changing its position to any considerable extent. In doing so, they twist over and over in S-like curves, sometimes giving an appearance of a writhed knot, while sometimes like a cork-screw (Fig. 2).

Comparison of these two forms and possible transitional stages will be described later on.

Type B. Individuals of this type are characterised of its stumpy body resembling some of avian forms. It is leaf-like in its shape, measuring from 50 to 70 microns in length and from 9 to 11 microns in breadth. As observed in fresh condition they are found wriggling in S-shape, as in Sub-type Ab. The body consists of clear cytoplasm containing some small vacuoles and inclosures; and the myonemes running parallel to the axis of the body can be seen in living condition. A margin of the body is beautifully folded and, while living, it displays a rippling motion which gives the observer an idea of a well developed undulating membrane. As carefully observed the body is provided with a thicker ventral portion and a thinner dorsal edge, which gradually pass over each other and no trace of a distinct boundary between the main trunk and the undulating part of the body is recognizable, in contradictory to other forms. When well stained, the myonemes can be clearly recognized, and the posterior third is found sometimes vacuolated. The part behind the blepharoplast (about 10 microns in length) takes up stains feebly in contrast with the broad main part of the body. That part of the body is commonly slender but as in the case with other forms of Trypanosome, it varies markedly in shape, and abnormalities, such as dichotomous branching are frequently observed. The flagellum run closely to the main part of the body, usually lacking feebly stainable membraneous region between them. The free flagellum is comparatively long, and measures about 15 microns in length. The form and situation of the nucleus is one of the most conspicuous characteristics of this type. It is elliptical or oval; the minor axis measures usually 5 or 6 microns, while the major varies from 6 to 15 microns. The nucleus is situated transversely or obliquely to the main axis of the body as is the case with some avian forms (Figs. 3—5).

Relation between Type A and Type B. As the typical form of each type are compared, many differences are easily recognized between them; not only in size and shape of the body but in more important characters

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

such as the shape and position of the nucleus, the mode of movement, etc. The differences in some of the characters are far greater than those commonly found among different species of the mammalian forms. Despite marked differences all possible transitional forms can be found between the two extremities, and no line of demarkation can be drawn. Since the differences between two extremities as regards most characters are slight that no special explanation is thought to be needed I will take up the relative position of the nucleus as an example of the characters in which transitional stages are not easily detected.

As already remarked, the nucleus of the smaller from of Sub-type A a is found in the anterior half, while in larger ones belonging Type B it occupies the middle part. Then, if these types represent the successive stages of metamorphosis, the gradual migration of the nucleus from the anterior to the middle part must have taking place pari passu with the growth of the body. To get a clear idea of the migration the measurements taken directly can not be used, hence I adopted the following method. We shall first reduce the distance between the blepharoplast and the hind border of the nucleus ["II" of Dutton, Todd and Tobey's method of describing the Trypanosome[1])] of all individuals into a certain constant number, and then shall calculate the relative length between the anterior border of the nucleus and the anterior extremity of the body ("IV" of the above method) and the constant number, indicating it as "IV'". If, then, the nucleus actually migrates, IV' should increase in proportion with the development of the animal.

Taking 25 as the above constant, they yielded the result that IV' varies between the range of 13 to 31, and represent a series of continuous number.

II : IV	Number of individuals	II : IV	Number of individuals
25 : 13	2	25 : 23	4
25 : 14	3	25 : 24	1
25 : 15	7	25 : 25	3
25 : 16	7	25 : 26	2
25 : 17	9	25 : 27	5
25 : 18	7	25 : 28	3
25 : 19	6	25 : 29	7
25 : 20	6	25 : 30	1
25 : 21	3	25 : 31	1
25 : 22	2		

As the table shows, in some individuals the nucleus is situated in the posterior region, while in others in the anterior, but no dividing line is to be drawn between these two extremes. When, in addition to the above, the relation between IV', and the total length of the body is figured out, the result is more interesting. The following table shows the result of measurments of forms belonging to Type A:

II : IV	Average length of the body (in micron)
25 : 10 to 15	50,1
25 : 16 to 20	53,6
25 : 21 to 25	55,1

1) Memoir Liverpool School of Tropical Medicine. XXI. 1906.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

And the ratio of II and IV of Type B is 25 : 26,7. Thus it may safely be concluded from the above data, that in Types A and B the actual migration of the nucleus from the anterior part to the posterior takes place as the body grows.

Here it may be of interest to note that some cases analogous to the above remarked metamorphosis are found in the Trypanosomes of fishes, in which dimorphic or polymorphic nature has already been well made out by various authors. Different authors entertain discordant views as regard the significance of polymorphism of them. In some cases the disparity has been explained to be due to development while in some other cases individuals have been classified as different species or varieties of one species. Lately published papers on these forms furnish us materials of no small interest concerning their metamorphoses. Of these, Minchin's remarks[1]) on Trypanosoma percae and Zupitza's[2]) on Trypanosomes parasitic in the fishes collected at Duala, shows that the above metamorphosis has also been seen in those cases. A disparity as seen between the two varieties distinguished by Laveran and Mesnil[3]) will not be of rare occurence in Trypanosomes of cold-blooded animals, and experience seems to show that further study may reveal the existence of transitional forms in some, or in great majority, of these cases. In fact, Minchins observation on Trypanosoma granulosum[4]) of the eel proved that there exist no characters to separate sharply the forms into two varieties as Lebailly[5]) hat essayed.

Type C. Individuals belonging to Type C and Type D are of peculiar shape and organisation, and are conspicuously distinguishable from ordinary types of the Trypanosome. Description of Type C has been, as far as I am aware, given only by França and Athias[6]).

The typical form of this type assumes a hemisphere or a quadrangle in outline, the breadth of which measuring about one third of the length. It measures usually 30—40 microns in length, sometimes 25 or 50 microns. The flagellum arises from a blepharoplast situated at one end, run along the curved edge and becomes free at the other extremity. Comparatively broad region along the flagellum displays regular rhythmic undulations and thus the parasites swim about or rotate at a spot. The edge devoid of the flagellum is straight or slightly curved and is, as a rule, much shorter than the flagellated border.

The condition of the nucleus is the most conspicuous characteristic of the forms belonging to this type. It assumes a spindle-shape exceeding three fourth of the body in length, and usually shows a slight curve. The one end is directed towards the anterior or flagellated end, while the other, more or less pointed, lies adjointed to the blepharoplast, which is situated at the posterior extremity of the body (Figs. 10—12).

Transition of Type B to Type C. The constrast between the typical form of each type is very striking, and the mode of transition from one to the other is not a matter of easy supposition as in former cases. The differences in question, though apparently much entangled, are chiefly due to changes in form of the body and condition of the nucleus. The transition may there-

1) Proceed. Zoolog. Society of London. 1909.
2) Arch. f. Protistenk. Bd. 2. 1902.
3) Beihefte z. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 13. 1909.
4) loc. cit.
5) Arch. de Parasitol. T. 10. 1907.
6) Archivos do Real Instit. Bacteriol. Camara Pestana. Vol. 1. 1907.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fore be due to the following two factors: viz. (1) shortening and widening of the body, and (2) elongation and change of location of the nucleus.

As to the transition of the shape of the body, two possible modes may be assumed: first, bending on itself and fusion of one end or the both, secondly, simple shortening and widening. The above assumption is born out by the following facts. In individuals standing between Type B and Type C, one or both ends are frequently found bent more or less tightly on itself as shown in Figs. 6 and 7. In some individuals we see an indistinct line at corresponding place, marking undoubtedly the fusion has taken place. Some other forms shows no trace of fusion whereas the course of the flagellum indicates that the bending has actually taken place. Very stumpy individuals as shown in Fig. 8 are also frequently met with. Some of them may have been formed through the above method, but some are unquestionably due to simple shortening. In considering the occurrence of two modes the fusion seems to be more prevalent.

Regarding the shape and position of the nucleus, transitional forms are easily recognizable. Of Type B, in which the nucleus is usually oval or elliptical, some are found provided with the nucleus conspicuously elongated, measuring some 15 microns in length and lying obliquely in reference to the main axis of the body (Fig. 3). As the parasite grows, the nucleus is more and more elongated and the inclination of its major axis to the main axis of the body becomes more and more diminished. While these changes are going on in the nucleus the ends of the body are contracted by the modes as remarked above, and one extremity of the nucleus comes very near the blepharoplast (Figs. 6 and 9).

Type D. Since Mayer's description (Paramoecium costatum vel. loricatum) forms belonging to this type have been well observed by many authors.

It assumes an oval or elliptical shape, measuring usually 30—40, sometimes 50 microns or more in length. The body is evenly flat and, at its rest, resembles an infusorium rather than a Trypanosome in several points, which makes Mayer's mistake for a Paramoecium a natural one. A round nucleus, measuring usually 5 microns in diameter, is found at the central part and a small but distinct blepharoplast at a short distance from the nucleus. The undulating membrane pass by or over the nucleus and run straight to the extremity along the main axis of the body. It measures about 5 microns in breadth and stands vertically to the body surface, suggesting the dorsal fin of a skate, but free edge is considerably long and the flagellum necessarily takes a serpentine course. At the extremity where the flagellum becomes free the body is inconspicuously attenuated. The free flagellum is not so long. Very distinctly developed myonemes, usually 6—8 in number, are found. Each myoneme does not end at the edge of the body but forms a complete ring along both the dorsal and ventral surface. At rest, they thake a more or less parallel course running in direction of the main axis of the body, but when they twist their body, each myoneme assumes an 8-shape and thus sometimes they give an appearance of entangled threads (Figs. 15 and 16).

Transition of Type C to Type D. Mode of transition of these two types seems at first much intricate, but in reality it is not so complicated. The long and spindle shaped nucleus, typical to Type C, gradually contracts into a small and round one situated at the centre of the

Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

body. In Figs. 13 and 14 two stages in the process are shown, where the nucleus is much shortened and strongly curved. As the nucleus contracts, the blepharoplast also migrates to the centre accompanying it. By this time the course of the flagellum and the undulating membrane is altered as Fig. 13 shows. After this the base of the undulating membrane is shifted to the main axis of the body. Whereas the base of the membrane greatly shortens, the flagellum keeps its original length and is now strongly folded. It thus gives a characteristic aspect of the form belonging to Type D.

So far as I not met with any specimen with characteristics specific enough to be separated from the above discussed types and I think it is quite reasonable to draw conclusion that the Trypanosomes found in frogs of Tokyo is to be considered as belonging to a single species, Trypanosoma rotatorium.

October, 1910.

Explanation of the plate.

Various forms of Frog-Trypanosomes shown in scheme.

Fig. 1. Sub-type Aa.
Fig. 2. Sub-type Ab.
Figs. 3—5. Type B.
Figs. 6—9. Transitional forms between Type B and Type C.
Figs. 10—12. Type C.
Figs. 13 and 14. Transitional forms between Type C and Type D.
Figs. 15 and 16. Type D.

Nachdruck verboten.

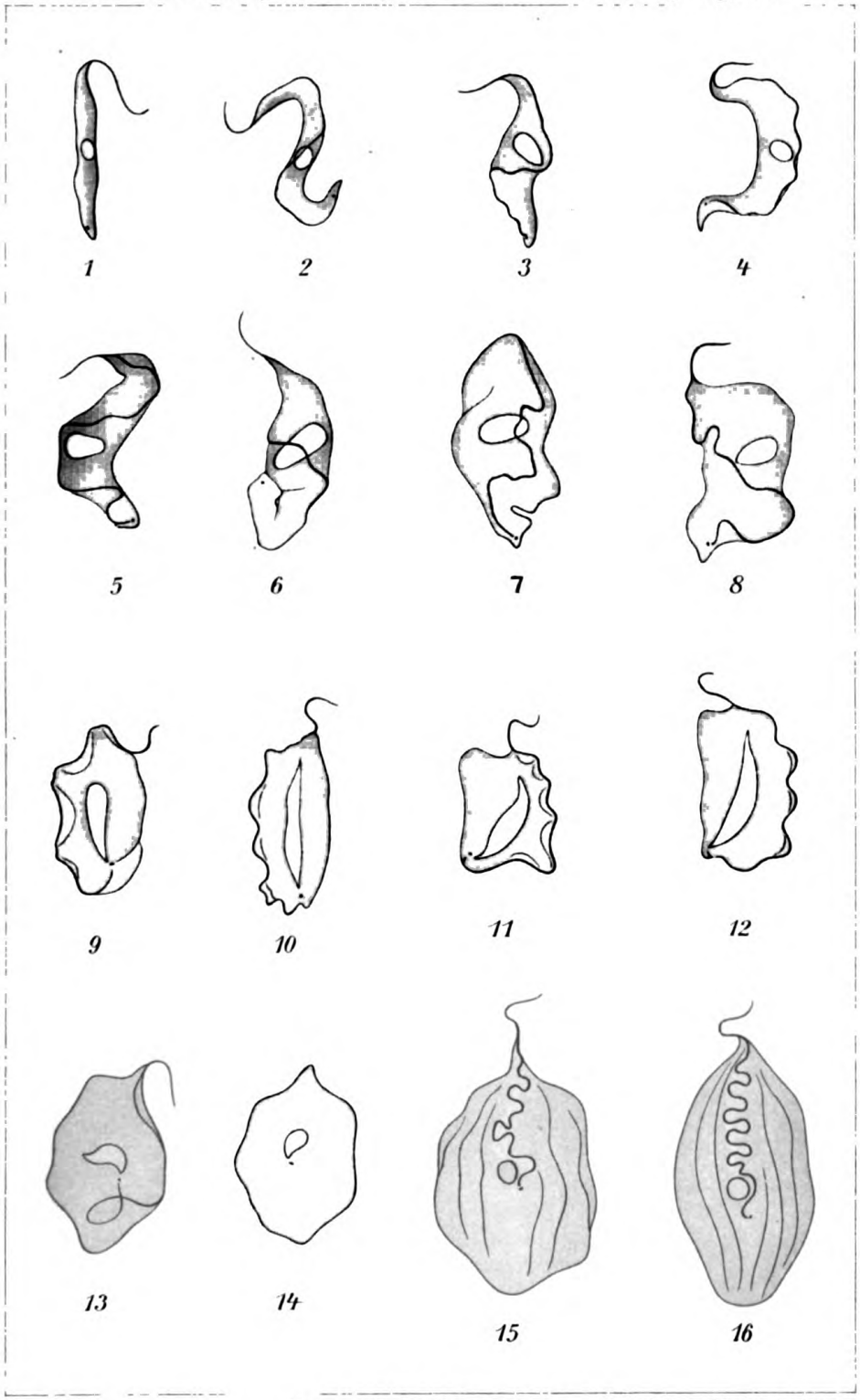
Die passive Tuberkulinanaphylaxie bei Meerschweinchen und ihre Unbrauchbarkeit für die Diagnose der Tuberkulose.

[Aus dem staatl. hygienischen Institut zu Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. Dunbar)
Abteilung für experimentelle Therapie und Immunitätsforschung.]

Von Dr. **Ernst Fränkel.**

Einen Fortschritt in der Diagnostik der Tuberkulose glaubte Roepke (1) mit der Verwendung der passiven Tuberkulinanaphylaxie bei Meerschweinchen erzielt zu haben. Er impfte das Serum tuberkulöser Individuen auf Meerschweinchen in Mengen von 2—3 ccm intraperitoneal und injizierte 24—48 Stunden danach 0,1 ccm Alttuberkulin. Er erhielt darauf bei tuberkulösen Seren stets einen starken Temperaturanstieg auf mehr als 39, häufig 40°. Diese Reaktion fehlte stets bei der Verwendung von nichttuberkulösem Serum. Schon vor ihm hatte Bauer (4) diese „passive Anaphylaxie" bei der subkutanen Impfung des Serums tuberkulöser Meerschweinchen auf andere und nachfolgender Injektion 0,125—0,2 ccm Alttuberkulin beobachtet; ebenso auch bei der Uebertragung von 5 tuberkulösen Menschensera. Die später vorgenommene Sektion der Meerschweinchen hatte erwiesen, daß diese bei der Impfung nicht mit Tuberkulose infiziert waren. Yamanouchi (7) berichtet über ähnliche Versuche bei Kaninchen. Er injizierte ihnen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Koidzumi gez. Verlag von **Gustav Fischer** in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

5 ccm Serum oder Punktionsflüssigkeit von Mensch, Hund oder Meerschweinchen. 24 Stunden darauf spritzte er ihnen 0,5 ccm verschiedener Tuberkulinpräparate subkutan ein und erhielt in 30 Fällen bei ca. 50 Kaninchen stets passive Anaphylaxie und Exitus. Bei 5 Kontrollfällen fehlte die Reaktion auch nach dreimaliger Injektion. Die Resultate waren bei der Verwendung von Meerschweinchen- und Hundeserum schlechtere als mit Menschenserum. Auch in der Arbeit von Helmholtz (11), der eine positive Pirquetsche Reaktion erhielt, wenn er bei Meerschweinchen das Serum tuberkulöser Meerschweinchen mit positiver Kutanreaktion injiziert hatte, handelt es sich um die passive Uebertragung einer Tuberkulinüberempfindlichkeit. Mit der Römerschen Intrakutanmethode (14) erhielt Kraus (16) eine positive Reaktion bei allen Meerschweinchen, die mit Tuberkelbacillenmaterial irgendwelcher Art (lebende oder abgetötete Menschen-, Geflügel- oder Rindertuberkulose) vorbehandelt war. Er faßt dies als den Ausdruck einer Bakterienanaphylaxie auf. In Widerspruch mit diesen Ergebnissen standen die Befunde von Novotny (9), der nach Vorbehandlung mit 2 ccm Normalserum vom Menschen und Meerschweinchen und Injektion von 0,2 ccm Alttuberkulin oft Fieber bis über 40° bei Meerschweinchen beobachtete, während er nach Impfung von tuberkulösem Meerschweinchenserum nur 38,6—39,6° erhielt. Anaphylaxie hatte er dabei niemals gesehen. Auch Simon (15) hatte bei Meerschweinchen nach der Injektion von 0,125 ccm Alttuberkulin bei Vorbehandlung mit 1,5 ccm von inaktiviertem tuberkulösem und nichttuberkulösem Serum in gleicher Weise Temperatursteigerung auf 39,6—40,6° erhalten. Dabei traten häufig Springkrämpfe auf, die er auch nach Injektion von 0,125 ccm Alttuberkulin allein sah. Bei der Verwendung von 0,3 ccm Tuberkelbacillenemulsion erhielt er weder Krämpfe noch Fieber. Bei Kaninchen gelang es ihm nur in einem einzigen Falle, durch die Injektion von 5 ccm Kuhserum mit nachfolgender Einspritzung von 0,125 ccm Alttuberkulin Temperatursteigerungen zu erzielen; bei Verwendung von Menschenserum dagegen nie. Mit Tuberkelbacillenemulsion konnte er bei Meerschweinchen niemals eine aktive Anaphylaxie erzeugen. Ueber negative Ergebnisse bei der Tuberkuloseanaphylaxie berichten ferner Frugoni (19), Weber (18), Schenk (20) und Vallardi (21).

Einer Anregung von Herrn Dr. Graetz folgend, unternahm ich zunächst die Nachprüfung der Roepkeschen Untersuchungen (1).

Als Versuchstiere wurden Meerschweinchen benutzt, deren Gewicht und Temperatur vorher genau festgestellt war. Sie erhielten dann Serum oder Ascites von tuberkulösen oder nichttuberkulösen Menschen und Meerschweinchen intraperitoneal injiziert und nach 24—48 Stunden 0,05—0,2 ccm Alttuberkulin subkutan. Die Temperaturmessung erfolgte rectal im allgemeinen 3-stündlich, nach der Tuberkulineinspritzung in kürzeren Zwischenräumen. Die Resultate, die bei der Impfung von 51 Meerschweinchen erhalten wurden, und die inzwischen erschienenen Publikationen von C. Fränkel und Bierotte (3) sowie von Roepke und Sturm (2) gaben im Hinblick auf die Uebereinstimmung nnserer eigenen Versuchsergebnisse mit denen der genannten Autoren die Veranlassung, diese Untersuchungen nicht weiter auszudehnen. Fränkel und Bierotte hatten festgestellt, daß nach Injektion von 2—3 ccm Serum die Temperatur um $^1/_2$° steigt; bei Injektionen von 0,1 ccm Alttuberkulin 24 Stunden nach der Impfung von normalem oder tuberkulösem Serum von Bouillon oder selbst ohne Vorbehandlung trat meist

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine starke Temperatursteigerung um 1—2° auf. Roepke erhielt gleichfalls nach Vorbehandlung mit Normalsera, mit Bouillon, mit Milch oder Kochsalz, nicht aber nach Injektion von 0,1 ccm Alttuberkulin allein Fieber bei seinen ca. 600 g schweren Meerschweinchen. Auch die Injektion von 2 ccm Bouillon allein verursachte Temperatursteigerungen.

Aehnlich waren unsere Ergebnisse. 18 Meerschweinchen waren mit dem Serum oder Ascites von mit Tuberkulose infizierten Meerschweinchen vorbehandelt. 11 von diesen stammten von Tieren mit makroskopisch sichtbarer Drüsen- und Organtuberkulose aus der 1., 2., 4. und 6. Woche nach erfolgter Infektion. Bei Nachbehandlung mit 0,2 ccm Alttuberkulin wurden als Höchsttemperaturen 39—40,3° nach 2—3 Stunden erhalten. Ein Meerschweinchen von 600 g zeigte nach 0,1 ccm Alttuberkulin nur 38,9°. Bei 2 Meerschweinchen von 280 g wurde nach 0,05 ccm Alttuberkulin 38,6° als Maximum festgestellt. 7 Meerschweinchen wurden mit 1—2 ccm Serum von 3 Tuberkulosefällen und 1 Lupus vom Menschen vorbehandelt. Ihr Gewicht betrug 300—400 g. Bei Injektion von 0,1 ccm Alttuberkulin wurden 39—39,5°, bei Verwendung von 0,05 ccm Alttuberkulin 38,4—39,7° erreicht (tuberkulöse Meerschweinchensera). Eine weitere Serie von 8 Meerschweinchen im Gewicht von 200—300 g erhielt wechselnde Mengen 0,5—2 ccm Serum und Pleuraexsudat von tuberkulösen Individuen im I., II. und III. Stadium injiziert. Bei Reinjektion von 0,05 ccm Alttuberkulin nach 2 Tagen gaben 2 von diesen, die mit 2 ccm Pleuraexsudat geimpft waren, Temperaturausschläge über 39°, nämlich 39,5 und 39,6°. Die übrigen hatten zwischen 38 und 39°; bei einigen war direkt nach der Seruminjektion bereits ein höherer Temperaturanstieg erfolgt, als nach der Tuberkulinimpfung. 4 Meerschweinchen von 320—420 g erhielten 3, 2 und 1 ccm normales Meerschweinchenserum intraperitoneal. Nach 0,2 ccm Alttuberkulin stieg die Temperatur auf 39 resp. 39,7°, nach 0,1 ccm auf 39,2°, nach 0,05 ccm auf 38,2°.

Mit 1—2 ccm menschlichen Serums von nichttuberkulösen Patienten wurden 14 Meerschweinchen im Gewicht von ca. 200—300 g vorbehandelt. Die Injektion von 0,1 ccm Alttuberkulin gab ganz schwankend Höchsttemperaturen von 38,7—40,5°, die von 0,05 ccm Alttuberkulin solche von 38—40°. Die später vorgenommene Tötung und Sektion einiger Tiere, die 38,7—40,5° Temperatursteigerung gehabt hatten, ergab keinerlei pathologischen Befund. Durch diese Ergebnisse war die diagnostische Verwertbarkeit der Temperatursteigerung bereits sehr in Frage gestellt. Noch mehr wurde sie dies durch eine Reihe von 8 Meerschweinchen, die nur mit verschiedenen Dosen von Alttuberkulin geimpft wurden.

Tiere von 260—350 g erhielten 1,0—0,02 ccm Alttuberkulin teils intravenös, teils subkutan. Nach der intravenösen Injektion von 1,0 und 0,5 ccm traten Zuckungen, Zittern, Harn- und Kotentleerungen, Sträuben des Felles und Temperaturabfall auf 35—36° ein. Nach 6 Stunden erfolgte wieder Anstieg auf 37,8—38,5°. Nach 0,25 ccm fehlten die Zuckungen, doch stieg die Temperatur auf 39,1° nach $2^1/_2$ Stunden. 0,2—0,1 ccm Alttuberkulin subkutan verursachten nach einigen Stunden Temperaturen von 39,4—39,7°. Ein Tier von 230 g bekam nach 0,05 ccm Alttuberkulin subkutan 40,3°, ein Tier von 270 g nach 0,03 ccm Alttuberkulin subkutan 38,6°, ein solches von 260 g nach 0,02 ccm subkutan 39,1°. Es erwies sich also die Temperatur der Tiere nach der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tuberkulininjektion als äußerst schwankend, wobei eine sichere Abhängigkeit von Dosis und Tiergewicht nicht zu konstatieren war. Da auch ohne jeden Eingriff die Temperatur des Meerschweinchens oft um mehrere Grade schwanken kann (Novotny), darf dies nicht wunder nehmen. Die niedrige Temperatur nach den Dosen 0,5 und 1,0 ccm dürfte einmal von der intravenösen Applikation und ferner von deren kollapsartiger Wirkung herrühren.

Die intravenöse Injektion von 0,4 ccm Bacillenemulsion ließ die Temperatur auf 39°, die subkutane von 0,05 ccm Bacillenemulsion auf 39,5° ansteigen.

Schlußsätze:

1) Die Temperatursteigerung bei Meerschweinchen nach Injektion tuberkuloseverdächtigen Materials mit nachfolgender subkutaner Tuberkulininjektion ist kein geeignetes Kriterium für die Diagnose der Tuberkulose.

2) Sie kann nach der Vorbehandlung mit dem Serum oder Exsudat tuberkulöser Individuen fehlen.

3) Häufig tritt sie nach Vorbehandlung mit Normalserum auf.

4) Auch nach Tuberkulininjektion allein ist häufig Temperatursteigerung zu beobachten.

Literatur.

1) Roepke, Zeitschr. f. Med.-Beamte. XXIII. No. 5.
2) — u. Sturm, II., Zeitschr. f. Med.-Beamte. XXIII. No. 18.
3) Fränkel u. Bierotte, Zeitschr. f. Med.-Beamte. XXIII. No. 18.
4) Bauer, München. med. Wochenschr. LVI. No. 24; Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. Bd. 13. H. 3.
5) Michaelis u. Eisner, Zeitschr. f. Immunforsch. Bd. 6. No. 4.
6) Kraus u. Volk, Zeitschr. f. Immunforsch. Bd. 6. No. 5.
7) Yamanouchi, Wien. klin. Wochenschr. 1908. p. 1623.
8) Eitner u. Störk, Wien. klin. Wochenschr. 1909. No. 23.
9) Novotny, Zeitschr. f. Immunforsch. Bd. 3. p. 679.
10) Joseph, Zeitschr. f. Immunforsch. Bd. 4. p. 575.
11) Helmholtz, Zeitschr. f. Immunforsch. Bd. 3. p. 371.
12) Römer u. Joseph, Berlin. klin. Wochenschr. 1909. No. 28.
13) Davidsohn u. Friedemann, Berlin. klin. Wochenschr. 1909. No. 24.
14) Römer, Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. Bd. 12. H. 1.
15) Simon, Zeitschr. f. Immunforsch. Bd. 4. p. 547.
16) Kraus, R., München. med. Wochenschr. 1910. p. 436; Ref. Fol. Ser.
17) Hamburger u. Monti, Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. Bd. 16. H. 3; Ref. Fol. Ser. Bd. 5. 1910. H. 4.
18) Weber, Gustav, Diss. Leipzig 1910. 34 p.; Ref. Centralbl. f. Biochem. u. Biophys. Bd. 11. 1911. No. 5.
19) Frugoni, Policlinico. Sez. Med. 1910.
20) Schenk, Zeitschr. f. Immunforsch. Bd. 5. H. 4.
21) Vallardi, Zeitschr. f. Immunforsch. Bd. 7. H. 3.

Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Versuche zur Oberflächensterilisation ganzer Organe für die Gewinnung von Reinkulturen aus diesen.

Von Dr. phil. und med. **Bruno Busson,**
Assistenten am Hygienischen Institute in Graz.

Im Jahre 1909 veröffentlichte A. Feoktistow im Centralbl. f. Bakt. Bd. 51. Heft 6 eine kurze Mitteilung, nach der es ihm gelungen sei, aus ganzen Organen, ungeachtet der etwa vorausgegangenen Oberflächenverunreinigungen, Reinkulturen zu züchten.

Das angegebene Verfahren ist sehr einfach auszuführen, und besteht darin, daß man die herauspräparierten Organe auf einige Sekunden in 10-proz. Aetzkali- oder Aetznatronlösung und von dieser direkt in die betreffende Nährlösung oder selbst in steriles Wasser überträgt. Das auf diese Weise mit den Organen übertragene Aetzkali soll in keiner Weise die Entwickelung der Mikroorganismen beeinträchtigen. Die Methode soll weiterhin den Vorteil besitzen, daß sie jegliches Sterilisieren von Instrumenten, Schalen etc. unnötig macht, da dieser Zweck ohne weiteres durch Eintauchen in die betreffende Aetzkalilösung erreicht werden kann.

Feoktistow hat seine Versuche an Organen kleiner Nager vorgenommen, die er ausschließlich mit verschiedenen Mäusetyphusstämmen infizierte; eine andere Bakterienart kam nicht zur Verwendung. Auf die Wiedergabe von Versuchsprotokollen hat der Autor verzichtet.

Da nach den Angaben Feoktistows mit diesem Verfahren jede bakterielle Oberflächenverunreinigung mit Sicherheit ausgeschaltet werden kann, andererseits die Reinkultur selbst aus den kleinsten Organen einer Brandmaus garantiert ist, schien hiermit ein für die Praxis außerordentlich wichtiges Problem in technisch leicht durchführbarer Weise gelöst zu sein. Ich habe die von Feoktistow vorgeschlagene Methode nachgeprüft, und werde im folgenden die Ergebnisse meiner Versuche wiedergeben.

Vorausschicken möchte ich noch, daß zu meinen Tierversuchen ausschließlich weiße Mäuse benutzt und daß diese Tiere zu den Versuchen nur dann verwendet wurden, wenn dem Tode in kurzer Zeit die Sektion folgen konnte, um zu verhüten, daß durch postmortales Einwandern von Keimen, etwa aus dem Darm in die Organe, falsche Resultate vorgetäuscht würden.

Die Technik ist bei allen Versuchen die gleiche geblieben. Die vorher nicht sterilisierten Instrumente wurden auf einige Minuten in das betreffende Desinfektionsmittel resp. in die betreffende Lösung übertragen, und zwar in doppelter Anzahl. Die eine Hälfte wurde zum Bloßlegen der Organe, die andere zum Herauspräparieren verwendet. Es hat sich dabei als praktisch erwiesen, mit breiten Pinzetten zu arbeiten, weil sich dadurch ein Einreißen der einzelnen Organe leichter vermeiden läßt.

Wurden nach dem Desinfektionsmittel Spülflüssigkeiten verwendet, so wurde stets, wie auch in allen übrigen Fällen, wo dies notwendig erschien, durch Kontrollen die Keimfreiheit festgestellt.

Zu je einem Versuche wurden stets das Herz, die beiden Lungen und Nieren, die Milz und die Leber, im ganzen 7 Organe, verwendet.

Es wurde nun zunächst eine Reihe von Versuchen nach den Angaben Feoktistows vorgenommen, die fast durchgehend die Angaben

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des obigen Autors zu bestätigen schienen. Zur Infektion verwendete ich einen frischen, für weiße Mäuse äußerst pathogenen Mäusetyphusstamm.

Selbst als die Verunreinigung der Organe durch Eintauchen in Staphylokokken- oder Prodigiosus-Bouillonkultur erfolgte, gelang es durch nachträgliche Spülung mit 10-proz. wässeriger Natron- oder Kalilauge, den Mäusetyphus in Reinkultur aus den betreffenden Organen zu gewinnen. Dabei wurde so vorgegangen, daß die Organe nach versuchter Sterilisation ihrer Oberfläche zunächst in Bouillon auf 24 Stunden übertragen, und dann aus dieser Bouillon Gelatineplatten gegossen wurden.

Nunmehr wurden einige Kontrollversuche in der Weise vorgenommen, daß die Spülung mit Natronlauge nach stattgehabter Verunreinigung weggelassen wurde. Diese Kontrollversuche brachten nun das überraschende Ergebnis, daß in allen jenen Fällen, in denen die Verunreinigung nicht eine sehr erhebliche war, ebenfalls auf den Gelatineplatten lediglich Mäusetyphus in Reinkultur anging. So wurde z. B. gefunden, daß Organe der mit Mäusetyphus gefällten Mäuse, wenn dieselben (Organe) auf ein mit Staphylokokkenbouillon getränktes Fließblatt gelegt worden waren, im Plattenverfahren nur mehr Mäusetyphuskolonieen zur Entwickelung kommen ließen, und es ergab sich daraus von selbst der Schluß, daß bei den günstigen Resultaten, welche Feoktistow mit seiner Methode erzielte, nicht unbeträchtlich die Ueberwucherung anhaftender Verunreinigungen durch den Mäusetyphus mitgespielt haben konnte.

Diesbezügliche Versuche ergaben, daß der von mir benutzte Mäusetyphusstamm zugleich mit Staphylokokken oder Prodigiosus (je eine Oese Bouillonkultur) in Bouillon übertragen, diese letzteren innerhalb 24 Stunden so vollständig zu überwuchern vermag, daß die Staphylokokken im Gelatineplattenverfahren, wenn überhaupt, so nur in einigen wenigen Kolonieen zur Geltung kommen. Wenn wir nun weiterhin annehmen, daß die den Organen oberflächlich anhaftenden, verunreinigenden Keime durch die Spülung mit Lauge geschädigt, zum Teile abgetötet werden, dann muß es dem virulenten Mäusetyphus um so leichter fallen, sich bei dem Kampfe ums Dasein durchzusetzen.

Die Versuchsanordnung mußte demnach geändert werden und zur Infektion der Tiere eine Bakterienart gewählt werden, die neben sich leicht eventuell bestehende Verunreinigung aufkommen läßt und keine ausgesprochene Tendenz zeigt, andere Bakterien zu überwuchern, andererseits für die betreffenden Versuchstiere die nötige Pathogenität besitzt. Diese beiden Bedingungen erfüllt der Milzbrand.

Die neuen Versuche wurden nun in der Weise ausgeführt, daß die Versuchstiere durch Milzbrand gefällt wurden, und daß deren Organe zumeist durch rasches Eintauchen in die Mäusetyphus- oder Coli-Bouillon verunreinigt, dann aber sofort in die desinfizierende Spülflüssigkeit übertragen wurden. Ich habe absichtlich neben verschieden abgestuften auch eine so starke Art der Oberflächenverunreinigung gewählt, weil ein Verfahren nur brauchbar sein kann, wenn es allen unter natürlichen Umständen möglichen Zufälligkeiten Rechnung trägt.

Die bei dieser neuen Versuchsanordnung erhaltenen Ergebnisse haben nun die volle Unzuverlässigkeit der von Feoktistow angegebenen Methode dargetan.

Obgleich eine große Zahl von Versuchen in verschiedenen Modifikationen vorgenommen wurde, ist es nur äußerst selten gelungen, die Verunreinigung nach der Feoktistowschen Methode zu beseitigen. Das von Feoktistow vorgeschlagene Verfahren erfüllt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

demnach die an dasselbe zu stellenden Anforderungen in keinerlei Weise.

Es wurde nun eine Reihe von Versuchen mit anderen Desinfektionsmitteln angeschlossen, über deren Ergebnisse ich ebenfalls noch kurz berichten will.

Die Forderungen, die an ein brauchbares Verfahren zur Oberflächensterilisation zu stellen sind, wären ungefähr folgende:

1) Das betreffende Desinfektionsmittel muß die sichere Abtötung aller der Oberfläche anhaftenden oder in die oberflächlichen Partieen von Gewebsspalten der zu desinfizierenden Organe eingedrungenen Keime gewährleisten.

2) Die Technik muß einfach sein und die Tiefenwirkung des Desinfektionsmittels darf bei völliger Erreichung des Zweckes nur so weit gehen, daß die im Inneren der Organe befindlichen Bakterien ungeschädigt bleiben, ferner dürfen die äußeren Gewebsteile nicht so weit verändert werden, daß das Uebertreten der Keime aus dem Innern in die Nährlösung dadurch verhindert wird.

3) Das Disinfektionsmittel muß leicht entfernt, oder so weit unschädlich gemacht werden können, daß es nicht im weiteren Verlaufe entwickelungshemmend oder bakterizid wirkt.

Insbesondere die letzte dieser 3 Forderungen schließt schon eine größere Zahl der Desinfizientien aus.

Da es nun nach verschiedenen Richtungen notwendig war, orientierende Vorversuche zu machen, wurden dieselben, um Material zu sparen, in größerem Umfang zunächst mit frischen, im strömenden Dampf sterilisierten Rindfleischstückchen vorgenommen. Es war wohl von vornherein anzunehmen, daß den Versuchen an frischen Organen zum Teil andere Verhältnisse zugrunde liegen, aber diese zahlreichen Vorversuche gaben insbesondere wichtige Aufschlüsse in bezug auf eventuelle Mitübertragung entwickelungshemmender oder keimtötender Substanzen in die Nährlösung nach beendeter Oberflächensterilisation.

Diese Vorversuche wurden stets so ausgeführt, daß die sterilen Rindfleischstückchen zunächst der Einwirkung verschiedenprozentiger Desinfektionslösungen durch verschiedene Zeitdauer ausgesetzt und dann auf bestimmte Zeit in die neutralisierenden Spülflüssigkeiten eingebracht wurden. Nachdem sie nunmehr in Bouillon übertragen worden waren, wurde in diese etwas Coli-Kultur nachgeimpft, um zu sehen, ob entwickelungshemmende oder bakterizide Substanzen mitübertragen waren.

Auf diese Weise konnte unter gegebenen Verhältnissen genau ermittelt werden, bei welchem Prozentgehalte des Desinfektionsmittels und bei welcher Einwirkungsdauer desselben entwickelungshemmende oder gar bakterizid wirkende Substanzen in die Nährlösung mitübertragen waren.

Die daran anschließenden Oberflächensterilisationsversuche wurden in ganz derselben Weise ausgeführt, nur war an Stelle der nachträglichen Impfung eine vorausgehende Verunreinigung der Fleischstückchen durch Eintauchen derselben in Coli-Bouillonkultur getreten.

Durch vergleichsweise Gegenüberstellung der beiden auf solche Weise erhaltenen Versuchstabellen war es möglich, die Grenzen für die Desinfektionswirkung einerseits und der entwickelungshemmenden Wirkung einzelner Desinfizientien andererseits unter gegebenen Verhältnissen und gegenüber Bacterium coli ziemlich genau festzustellen.

Auf eben dieselbe Art wurde auch die Unschädlichkeit der angewendeten Neutralisations- und Spülflüssigkeiten erprobt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es liegt in der Natur der Sache, daß die ermittelten Werte nicht einfach auf die folgenden eigentlichen Oberflächensterilisationsversuche an frischen Organen selbst übertragen werden konnten, da ja, wie erwähnt, geänderte Bedingungen diesen Versuchen zugrunde lagen, aber immerhin waren dadurch gewisse Grenzen gezogen, und vor allen Dingen war ich über eventuelle Nachwirkungen oder Desinfektionsmittel orientiert.

In dieser Weise wurden nun folgende Desinfizientien auf ihre Brauchbarkeit zur Oberflächensterilisation geprüft:

1) Alkohol,
2) Natron- und Kalilauge
   in a) wässeriger Lösung,
   b) alkoholischer Lösung.
3) Formalin
4) Salizylsäure,
5) Salizylaldehyd,
6) Lysol,
7) Lysoform,
8) Morbizid,
9) Jod (alkohol.),
10) Antiformin,
11) Agentum nitricum,
12) Alkohol und Abbrennen desselben,
13) strömender Dampf.

Als Spül- resp. Neutralisationsflüssigkeiten wurden verdünnte Ammoniaknatronlauge und Natriumthiosulfatlösungen angewendet. Dazu möchte ich überdies erwähnen, daß ungünstig ausgefallene Vorversuche mit Sublimat mich dieses Desinfektionsmittel als für meine Zwecke ungeeignet nicht weiter untersuchen ließen. Ebenso habe ich die von Conradi angegebene Oelbadsterilisation, die in jüngster Zeit von T. Amako nachgeprüft und für völlig unzureichend befunden wurde, nicht weiter in meine Versuchsreihen aufgenommen.

Das Ergebnis der Sterilisationsvorversuche an gekochten Fleischstückchen war eigentlich nur für die Morbizid- und Lysolversuche und jene mit strömendem Dampf ein günstiges, insofern die beiden ersteren in 2-proz. Lösung meist schon nach 3 Minuten bei nachträglicher Natronlaugenspülung, der letztere nach 5 Minuten Einwirkungsdauer die den Fleischstückchen anhaftenden Coli-Keime vernichtet hatten. Die zur Nachspülung verwendete Natronlauge war 2-proz. und muß deren Einwirkung hier mit in Rechnung gebracht werden. Formalin und Lysoform besitzen eine beträchtliche entwickelungshemmende Wirkungszone, die sich niemals innerhalb der Versuchsgrenzen hätte vollkommen beseitigen lassen. Antiformin war selbst in 50-proz. Lösung bei einer Einwirkungsdauer von 10 Minuten nicht imstande, alle Keime abzutöten.

Ganz in ähnlicher Weise und mit denselben Desinfektionsmitteln wurden die eigentlichen Sterilisationsversuche mit frischen Organen vorgenommen. In die frischen Organe dringen die Desinfektionsmittel verhältnismäßig rasch ein, und die bei diesen Versuchen erhaltenen Resultate waren bei einigermaßen stärkerer Oberflächenverunreinigung durchweg ungünstige, insofern entweder die verunreinigenden Coli-Keime sich weiter entwickelten, oder deren Abtötung mit der Vernichtung aller, auch der im Innersten der Organe befindlichen Milzbrandbacillen zusammenfiel.

Diese durchweg negativen Ergebnisse, welche ich bei meinen zahlreichen Versuchen zur Oberflächensterilisation erhalten habe, drängen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nun von selbst die Frage auf, ob denn überhaupt durch Verunreinigung frischer Organe und Organstücke mit Bacillenaufschwemmungen auch wirklich nur eine Oberflächenverunreinigung stattfindet, oder ob nicht vielmehr die verunreinigenden Bakterien innerhalb der kürzesten Zeit in die Gewebsspalten und Lücken, oder künstlich gesetzten Einrisse in das Innere der Organe selbst einzudringen vermögen, oder durch das Anfassen mit der Pinzette und die damit verbundene Gestaltsänderung mechanisch eingesaugt werden, so daß es unter Umständen eine Oberflächenverunreinigung der Organe überhaupt nicht gibt.

Außerdem wäre für viele der Desinfektionsmittel auch anzunehmen, daß derartige feinste Spalten und Gewebslücken, in welche die Bacillen eingedrungen sind, bei Uebertragung in die Desinfektionslösung sich durch Aufquellen des Gewebes, oder durch Eiweißfällungen zunächst so weit verschließen, daß das Eindringen des Desinficiens behindert wird. Die vorher eingedrungenen Keime werden von dem Desinfektionsmittel erst allmählich mit dem langsamen Vordringen desselben in tiefere Schichten erreicht werden.

Ich habe diese Auffassung auf Grund der von mir ausgeführten Versuche angenommen, nach denen eine Abtötung der verunreinigenden Keime fast stets auch mit einer Vernichtung der in den Organen selbst vorhandenen Bakterien einhergeht.

Eben als meine Versuche abgeschlossen wurden, fand diese Vermutung eine sichere Stütze in den Ergebnissen der Arbeit T. Amakos[1]), „Untersuchungen über das Conradische Oelbad und den Bakteriengehalt der Organe gesunder Tiere".

Dieser Autor fand zunächst, daß es selbst bei Oberflächenverunreinigung mit nur sehr kleinen Mengen Kultur, die an Leber, Milz und Niere ausgeführt wurden, durch Uebertragen dieser Organe in das auf 200° erhitzte Conradische Oelbad nicht gelingt, die Oberflächenverunreinigung sicher abzutöten, außer man sterilisiert die ganzen Organe durch vollkommenes Durchbraten. Er konnte ferner auf experimentellem Wege nachweisen, daß Paratyphusbacillen, welche auf frisches Muskelfleisch übertragen werden, bei Zimmertemperatur bereits nach 1 Stunde $^1/_2$ cm tief, bei 37° aber zur selben Zeit schon 1 cm tief eingedrungen waren.

Nun ist aber ohne weiteres einzusehen, daß dieses Eindringen sehr von der Beschaffenheit des Organes abhängen dürfte, insofern Leber, Lungen, Nieren etc. mit ihren vielen Kanälchen und Spalten diesem Vordringen vielfach größere Aussichten bieten werden, als das kompaktere Muskelfleisch.

Dies gibt sich in gewissem Sinne ja auch bei der Einwirkung der von mir verwendeten Desinfektionsmittel kund, indem gerade das größte Organ, die Leber, am häufigsten sterilisiert wurde, zu einer Zeit, wo aus den viel kleineren Nieren, Herz etc. noch immer Wachstum erfolgte. Die Leber und nach dieser die Lungen wurden stets am frühesten von den Desinfektionsmitteln durchtränkt und sterilisiert, was wohl nicht zum geringsten Teil auf die zahllosen Kanälchen zurückgeführt werden darf, die das Gewebe gleichsam auflockern und leicht durchtränkbar machen.

Es mag ja vielleicht speziell für die physikalischen Desinfektionsmittel die Größe des oberflächlich zu sterilisierenden Organes mit maßgebend sein, insofern als die Gefahr einer vollkommenen Sterilisierung

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 66. 1910.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des ganzen Organes auch bei längerer Einwirkung des Desinfektionsmittels geringer, die Aussicht auf Vernichtung der verunreinigenden Keime aber zugleich um so größer ist, doch sind derartige Detailuntersuchungen außerhalb des Rahmens meiner Experimente gefallen.

Für die Praxis ergibt sich aus meinen Versuchen, daß es mit den verwendeten Desinfektionslösungen im allgemeinen leicht und in kurzer Zeit gelingt, Instrumente zu sterilisieren; eine stärkere oder länger andauernde Oberflächenverunreinigung von frischen Organen sicher auszuschalten, ist aber durch vorliegende Versuche nicht geglückt.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bindungsweise hämolytischer Ambozeptoren.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts Berlin.]

Von Dr. **L. Schapiro.**

Trotz der zahlreichen Untersuchungen über die Hämolysine, die seit den Arbeiten von J. Bordet und von Ehrlich und Morgenroth vorliegen, ist die Zahl der Beobachtungen über die quantitativen Verhältnisse der Bindung der Ambozeptoren an die roten Blutkörperchen immer noch eine zu geringe, um über die Bindungsweise allgemeine Gesetze aufstellen zu dürfen.

Insbesondere über das Verhalten der Ambozeptorbindung bei verschiedenen Temperaturen und gegenüber Erythrocyten verschiedener Individuen gleicher Species ist wenig bekannt.

Systematische Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur und Zeit auf den Ablauf der Reaktion verdanken wir S. v. Poggenpohl[1]). Doch die relativ geringe Zahl der von ihm untersuchten hämolytischen Immunkörper rechtfertigt es, wenn wir die Mitteilung einiger eigener Versuche folgen lassen, die zur Prüfung der Allgemeingültigkeit seiner Angaben und zur Erweiterung unserer Kenntnisse über die Bindungsweise der Ambozeptoren angestellt wurden.

Wir stellten uns sechs hämolytische Ambozeptoren von Kaninchen, welche mit Ziegenblut behandelt wurden, und einen Ambozeptor eines mit Hammelblut immunisierten Kaninchens her.

Die Immunisierung der Tiere wurde derart durchgeführt, daß den Kaninchen defibriniertes Blut in einer Quantität von 10 ccm intravenös injiziert wurde. 2 Einspritzungen in Abständen von 7 Tagen wurden gemacht. Alle Sera wurden durch $^1/_2$-stündiges Erwärmen auf 55—56° C in sterilen Reagensröhrchen inaktiviert und in diesen im Eisschranke aufbewahrt. Die nach bekannten Prinzipien festgestellte lösende Dosis diente als Einheit für die Bindungsversuche. Die Versuchsanordnung entsprach der von v. Poggenpohl beschriebenen.

Zu einer konstanten Menge einer 5-proz. Aufschwemmung der gewaschenen Blutkörperchen wurden wechselnde Mengen des Ambozeptors gefügt; ein Röhrchen ohne Ambozeptor diente als Kontrolle. Ueberall wurde durch Auffüllen mit 0,85-proz. Kochsalzlösung gleiches Volumen hergestellt. Die Röhrchen blieben dann eine bestimmte Zeit bei konstanter Temperatur unter häufigem Umschütteln, hierauf wurde zentrifugiert, die Flüssigkeit vom Sediment abgegossen und dann jeder Anteil besonders untersucht. Die Sedimente wurden von neuem in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, zu den Abgüssen wurde Blutkörperchenaufschwemmung zugesetzt, hierauf überall Komplement zugefügt

1) Biochem. Zeitschr. Bd. 24. 1909.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und die eingetretene Hämolyse nach 2-stündigem Verweilen bei 37° und Sedimentieren im Eisschranke bis zum folgenden Tage beurteilt.

Variiert wurde die Menge des Ambozeptors, die Bindungszeit, die Temperatur und die Erythrocyten.

Wir lassen zunächst die Versuchsprotokolle folgen, welche sich auf die Prüfung des Einflusses der Temperatur auf die Bindung beziehen und über die „Avidität" Aufschluß geben.

Versuch 1.

Bindung des Ambozeptors während $^1/_2$ Stunde bei verschiedenen Temperaturen.

Ziegenblut 5-proz., 1× gewaschen, überall je 2 ccm. Ziege I. Z.-K. Ambozeptor vom 14. Jan. 1910.

Ambozeptormengen:

1) $0{,}25\,^1/_{100}$ = 1× lösende Dosis
2) $0{,}75\,^1/_{100}$ = 3× „ „
3) $0{,}25\,^1/_{10}$ = 10× „ „
4) $0{,}5\,^1/_{10}$ = 20× „ „

} Gesamtvolumen = 3 ccm.

5) 0 Kontrolle.

Bindung $^1/_2$ Stunde im Wasserbad: A. bei 0°, B. bei 20°, C. bei 37°; zentrifugiert.

Die Sedimente in Kochsalzlösung gewaschen und in 3 ccm aufgeschwemmt; davon je 1,5 ccm + Meerschweinchenserum 0,1.

Die Abgüsse: 1,5 ccm des Abgusses + 1,0 ccm Ziegenblut (5-proz.) + 0,1 Meerschweinchenserum.

	A.		B.		C.	
	Sediment	Abguß	Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1)	komplett	Spur	komplett	θ	komplett	θ
2)	„	mäßig	„	Spur	„	Spur
3)	„	komplett	„	mäßig	„	„
4)	„	„	„	komplett	„	mäßig
5)	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Der Versuch zeigt, daß nach $^1/_2$ Stunde bei den drei angewandten Temperaturen die einfache lösende Dosis des Ambozeptors gebunden ist. Bei einem größeren Multiplum derselben, dem 10-fachen, zeigt sich eine deutliche Differenz, indem bei 37° der gesamte Ambozeptor bis auf einen geringen Rest gebunden ist, während bei 0° mindestens eine lösende Dosis im Abguß nachweisbar ist. Das Experiment zeigt uns, daß der zeitliche Ablauf der Reaktion bei höherer Temperatur ein schnellerer ist.

Versuch 2.

Bindung desselben Ambozeptors während 1 Stunde bei verschiedenen Temperaturen.

Ziegenblut 5-proz., 1× gewaschen, überall je 2 ccm. Z.-K. Ambozeptor vom 14. Jan.

Ambozeptormengen:

1) $0{,}25\,^1/_{100}$ = 1× lösende Dosis
2) $0{,}75\,^1/_{100}$ = 3× „ „
3) $0{,}25\,^1/_{10}$ = 10× „ „
4) $0{,}5\,^1/_{10}$ = 20× „ „
5) 0 Kontrolle.

Versuchsanordnung wie beim Versuch 1: A. bei 0°, B. bei 37°.

	A.		B.	
	Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1)	komplett	Spur	komplett	θ
2)	„	mäßig	„	Spur
3)	„	komplett	„	„
4)	„	„	„	mäßig
5)	θ	θ	θ	θ

Der Versuch lehrt, daß bei einer Verlängerung der Bindungszeit von $^1/_2$ auf 1 Stunde ein Unterschied in der Menge des gebundenen Immunkörpers nicht nachweisbar ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch 3.

Z.-K. Ambozeptor vom 31. Dez. 1909. Ziegenblut 5-proz. Ziege I.
Versuchsanordnung wie im Versuch 1.
Bindung des Ambozeptors während $^1/_2$ Stunde: A. bei 20°, B. bei 37°.
Ambozeptormengen:
1) $0{,}25\,^1/_{100}$ = 1× lösende Dosis
2) $0{,}75\,^1/_{100}$ = 3× „ „
3) $0{,}25\,^1/_{10}$ = 10× „ „
4) $0{,}5\,^1/_{10}$ = 20× „ „
5) 0 Kontrolle.

	A. Sediment	A. Abguß	B. Sediment	B. Abguß
1)	komplett	θ	komplett	0
2)	„	Spürchen	„	Spürchen
3)	„	„	„	Spur
4)	„	komplett	„	„
5)	θ	0	0	θ

Aus diesem Versuche ersehen wir, daß im Vergleich mit Versuch 1 auch die 20-fach lösende Dosis dieses Ambozeptors bei 37° bis auf einen geringen Rest gebunden wurde.

Versuch 4.

Z.-K. Ambozeptor vom 21. Jan. 1910.
Wie Versuch 1.
Bindung des Ambozeptors während $^1/_2$ Stunde: A. bei 0°, B. bei 37°.
Ambozeptormengen:
1) $0{,}25\,^1/_{10}$ = 1× lösende Dosis
2) $1{,}0\,^1/_{10}$ = 4× „ „
3) 0,25 = 10× „ „
4) 0,5 = 20× „ „
5) θ Kontrolle.

	A. Sediment	A. Abguß	B. Sediment	B. Abguß
1)	komplett	Spuren	komplett	Spürchen
2)	„	komplett	„	mäßig
3)	„	„	„	komplett
4)	„	„	„	„
5)	Spürchen	0	Spürchen	θ

In diesem Versuche hatten wir es mit einem Ambozeptor geringer Wertigkeit und „Avidität“ zu tun, da bei der Temperatur von 0° von der 4-fach lösenden Dosis mindestens eine ungebunden blieb und bei 37° dasselbe bei der 10-fach lösenden Dosis angenommen werden muß.

Ein ähnliches Verhalten in bezug auf Wertigkeit und Avidität zeigte auch der folgende Ambozeptor.

Versuch 5.

Z.-K. Ambozeptor vom 1. Febr. 1910.
Wie Versuch 1.
Bindung des Ambozeptors während $^1/_2$ Stunde: A. bei 0°, B. bei 37°.
Ambozeptormengen:
1) $0{,}1\,^1/_{10}$ = 1× lösende Dosis
2) $0{,}4\,^1/_{10}$ = 4× „ „
3) 0,1 = 10× „ „
4) 0,2 = 20× „ „
5) 0 Kontrolle.

	A. Sediment	A. Abguß	B. Sediment	B. Abguß
1)	komplett	0	komplett	0
2)	„	mäßig	„	Spürchen
3)	„	komplett	„	mäßig
4)	„	„	„	komplett
5)	0	0	0	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Im folgenden Versuche wurde der fünfte Ambozeptor untersucht. Diesmal wurde geprüft, ob bei gleichbleibender Temperatur und einer Bindung während verschiedener Zeiten Differenzen sich ergeben.

Versuch 6.

Z.-K. Ambozeptor vom 5. März 1910.
Bindung während: A. $^1/_2$ Stunde bei 37°; B. 1 Stunde bei 37°.
Ambozeptormengen:
1) $0{,}1^1/_{100}$ = 1× lösende Dosis
2) $0{,}1^1/_{10}$ = 10× „ „
3) $0{,}2^1/_{10}$ = 20× „ „
4) $0{,}4^1/_{10}$ = 40× „ „
5) 0 Kontrolle.

	A. Sediment	A. Abguß	B. Sediment	B. Abguß
1)	komplett	0	komplett	0
2)	„	0	„	0
3)	„	Spürchen	„	Spürchen
4)	„	„	„	„
5)	0	0	0	0

Es resultiert aus diesem Versuche, daß eine $^1/_2$- bezw. 1-stündige Einwirkung des Ambozeptors auf die Bindung desselben ohne Einfluß war. Dieser Ambozeptor zeichnet sich durch große Wertigkeit und „Avidität" aus, da 40 lösende Dosen während $^1/_2$ Stunde gebunden wurden, und zwar nicht nur bei 37°, sondern sogar bei 0°, wie folgender Versuch zeigt:

Bindung während $^1/_2$ Stunde bei 0°:

	Sediment	Abguß
1)	komplett	0
2)	„	Spuren
3)	„	„
4)	„	„
5)	0	0

Ein analoges Verhalten zeigt der hochwertige sechste Ambozeptor, dessen Untersuchung folgendes Ergebnis hatte.

Versuch 7.

K.-Z. Ambozeptor vom 5. März 1910.
Bindung des Ambozeptors während $^1/_2$ Stunde: A bei 37°, B bei 0°.
Ambozeptormengen:
1) $0{,}1^1/_{100}$ = 1× lösende Dosis
2) $0{,}1^1/_{10}$ = 10× „ „
3) $0{,}2^1/_{10}$ = 20× „ „
4) $0{,}4^1/_{10}$ = 30× „ „
5) 0 Kontrollen

	A Sediment	A Abguß	B Sediment	B Abguß
1)	komplett	0	komplett	0
2)	„	0	„	0
3)	„	0	„	0
4)	„	0	„	Spur
5)	0	0	0	0

Fassen wir die Versuchsergebnisse der mitgeteilten Experimente zusammen, so können wir dieselben folgendermaßen ausdrücken:

1) Die Reaktion der Bindung des Ambozeptors an die Blutkörperchen ist von der Temperatur abhängig. In gleichen Zeiten wird um so mehr Ambozeptor gebunden, je höher die Temperatur ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Verschiedene Ambozeptoren derselben Art haben verschiedenartige Avidität den Blutkörperchen gegenüber. Die Menge des gebundenen Ambozeptors kann unter gleichen Bedingungen in weiten Grenzen schwanken. Die Avidität wird nicht durch die Wertigkeit des Immunserums bestimmt (Ambozeptoren vom 14. Jan. und 31. Dez.), wenn auch im allgemeinen die Avidität mit der absoluten Wirkung der Ambozeptoren parallel geht, derart, daß um so mehr gebunden wird, je wirksamer das Serum ist.

Unsere Feststellungen bilden also eine Bestätigung der von P. Th. Müller und v. Poggenpohl gefundenen Gesetzmäßigkeiten bei der Bindung der hämolytischen Ambozeptoren.

Es erschien uns interessant zu untersuchen, wie sich die Avidität der Ambozeptoren verhält, wenn bei gleichen Bedingungen die Blutkörperchen variiert werden. Wir bedienen uns hierzu derselben Ambozeptoren, deren Verhalten oben beschrieben wurde. Das entsprechende Blut lieferten uns 3 Ziegen, die wie in den folgenden Versuchen der Kürze halber als Ziege I, II, und III bezeichnen wollen.

Versuch 8.

Z.-K.-Ambozeptor vom 14. Januar 1910. Vgl. Versuch 1. Ziegenblut 5-proz. 1× gewaschen. Ziege II.

Bindung des Ambozeptors während $^1/_2$ Stunde bei verschiedenen Temperaturen: A bei 0°, B bei 20°, C bei 37°.

Ambozeptormengen:

1) $0{,}25\,^1/_{100}$ = 1× lösende Dosis
2) $0{,}75\,^1/_{100}$ = 3× „ „
3) $0{,}25\,^1/_{10}$ = 10× „ „
4) $0{,}5\,^1/_{10}$ = 20× „ „
5) 0 Kontrolle

	A		B		C	
	Sediment	Abguß	Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1)	komplett	Spur	komplett	0	komplett	0
2)	„	mäßig	„	Spur	„	Spur
3)	„	komplett	„	mäßig	„	„
4)	„	„	„	komplett	„	mäßig
5)	0	0	0	0	0	0

Versuch 9.

Derselbe Ambozeptor wie im Versuch 1 und 8. Ziegenblut 5-proz. 1× gewaschen Ziege III.

	A		B		C	
	Sediment	Abguß	Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1)	komplett	Spur	komplett	0	komplett	0
2)	„	mäßig	„	Spur	„	Spur
3)	„	komplett	„	mäßig	„	„
4)	„	„	„	komplett	„	mäßig
5)	0	0	0	0	0	0

Versuch 10.

Z.-K.-Ambozeptor vom 31. Dezember 1909. Vgl. hierzu Versuch 3. Ziegenblut 5-proz. 1× gewaschen. Ziege II.

Bindung des Ambozeptors während $^1/_2$ Stunde: A bei 20°, B bei 37°.

Ambozeptormengen:

1) $0{,}25\,^1/_{100}$ = 1× lösende Dosis
2) $0{,}75\,^1/_{100}$ = 3× „ „
3) $0{,}25\,^1/_{10}$ = 10× „ „
4) $0{,}5\,^1/_{10}$ = 20× „ „
5) 0 Kontrolle

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	A		B	
	Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1)	komplett	0	komplett	0
2)	„	Spürchen	„	Spürchen
3)	„	„	„	„
4)	„	komplett	„	Spur
5)	0	„	0	0

Auf Grund dieser Versuche muß angenommen werden, daß sich die Blutkörperchen verschiedener Individuen gleicher Species in bezug auf die Bindung gleichartig ein und demselben Ambozeptor gegenüber verhalten. Natürlich hat dieser Schluß nur für die hier verwendete Blutart seine Gültigkeit, und besitzt auch — der geringen Zahl der Versuche wegen — kein Anrecht auf Allgemeingültigkeit, da eine gewisse Differenzierung des Rezeptorenapparates auch unter den Individuen derselben Tierart erwiesen ist, wie sich dies bereits aus den Isolysinstudien Ehrlichs und Morgenroths ergeben hatte.

Wie verhält sich nun die Bindung des Ambozeptors bei Verwendung von Blutkörperchen, die mit den homologen eine Rezeptorengemeinschaft besitzen? Um diese Frage zu beantworten, wurde folgender Versuch angestellt.

Versuch 11.

a) Hammel-K.-Ambozeptor vom 25. November 1910. Ziegenblut 5-proz. 1× gewaschen, überall je 2 ccm.

Bindung des Ambozeptors während $^1/_2$ Stunde: A bei 0°, B bei 37°.

Ambozeptormengen:

1) 0,5 $^1/_{1000}$ = 1× lösende Dosis
2) 0,25 $^1/_{100}$ = 5× „ „
3) 0,5 $^1/_{100}$ = 10× „ „
4) 0,1 $^1/_{10}$ = 20× „ „
5) 0 Kontrolle

	A		B	
	Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1)	komplett	Spur	komplett	Spürchen
2)	„	„	„	Spur
3)	„	mäßig	„	„
4)	„	komplett	„	komplett
5)	0	„	0	0

b) Hammel-K.-Ambozeptor vom 25. November 1910. Hammelblut 5-proz. 1× gewaschen, überall je 2 ccm.

Ambozeptormengen:

1) 0,5 $^1/_{1000}$ = 1× lösende Dosis
2) 0,25 $^1/_{100}$ = 5× „ „
3) 0,5 $^1/_{100}$ = 10× „ „
4) 0,1 $^1/_{10}$ = 20× „ „
5) 0 Kontrolle

Versuchsanordnung wie bei a.

	A		B	
	Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1)	komplett	Spur	komplett	0
2)	„	„	„	Spur
3)	„	mäßig	„	„
4)	„	komplett	„	komplett
5)	0	0	0	0

Der Versuch zeigt, daß die Bindung des Ambozeptors eines gegen Ziegenblut immunisierten Kaninchens an Hammelerythrocyten, die eine Gemeinschaft des Rezeptorenapparates mit Ziegenblutkörperchen besitzen, sich ebenso verhält wie den homologen Blutkörperchen gegenüber.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir sind uns dessen wohl bewußt, daß auch die geringe Zahl der von uns ausgeführten Experimente nicht ausreichend ist, um verallgemeinernde Gesetze über das Verhalten der Bindung hämolytischer Ambozeptoren aufstellen zu dürfen, und daß hierzu noch die Ergänzung durch sehr zahlreiche weitere Versuche nötig sein wird. Unsere Mitteilung soll nur einen Beitrag zu dem erforderlichen Material liefern. Die mitgeteilten Versuche lassen uns zu folgenden Schlüssen gelangen:

1) Die Bindung des Ambozeptors ist von der Temperatur abhängig, und zwar wird unter sonst gleichen Bedingungen um so mehr gebunden, je höher die Temperatur ist (S. v. Poggenpohl).

2) Die Ambozeptoren besitzen verschiedene Avidität, die von der Wertigkeit unabhängig ist, wenn auch im allgemeinen der absolute Wert mit der Avidität parallel geht (P. Th. Müller).

3) Ziegenblutkörperchen verschiedener Individuen scheinen keine wesentlichen Differenzen des Rezeptorenapparates zu besitzen.

4) Hammel- und Ziegenblutkörperchen verhalten sich einem Ziegen-Kaninchenambozeptor gegenüber gleichartig und bewirken keine Unterschiede in der Art der Bindung des Immunkörpers.

Nachdruck verboten.

Ueber Glyzerolatnährböden.

[Aus der Veterinärabteilung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes.]

Von Dr. **Kurt Poppe,** wissenschaftlichem Hilfsarbeiter.

Unlängst hat Prof. Cantani[1]) in Neapel über eine praktisch sehr gut verwendbare Methode, albuminhaltige Nährböden für Bakterien zu bereiten, berichtet. Das Verfahren besteht darin, daß albuminhaltige Flüssigkeiten (Urin, Eiter, Sperma, Milch, Eidotter, Eiereiweiß, Exsudate, Blut etc.) mit gleichen Teilen Glyzerin versetzt werden. Durch den Glyzerinzusatz wird, wie bekannt, erreicht, daß die in den albuminhaltigen Flüssigkeiten vorkommenden Bakterien zugrunde gehen. Nach einer längeren oder kürzeren Zeit werden die albuminhaltigen Flüssigkeiten auf Sterilität geprüft und können dann verwendet werden. Diese, von Cantani Glyzerolate genannten Lösungen, die in der Menge von 0,5 bis 0,75 ccm einem verflüssigten Agar- oder einem Bouillonröhrchen beigemischt und durch 24-stündigen Aufenthalt im Brutschranke bei 37° C auf Sterilität geprüft werden, eignen sich zur Züchtung aller der Bakterien, deren Wachstum durch den Zusatz von Glyzerin begünstigt wird. Ein besonderer Vorteil dieser Glyzerolate gegenüber der Verwendung von frisch bereiteten albuminhaltigen Nährböden, deren sterile Herstellung und Aufbewahrung nur unter besonderen Vorsichtsmaßregeln möglich ist, liegt darin, daß die Glyzerolate, falls sie steril geworden sind, jahrelang haltbar sind.

Da ich beim Erscheinen der Cantanischen Abhandlung auf der Suche nach einem guten Nährboden für die Züchtung der Rotlaufbacillen war, stellte ich Versuche darüber an, ob die Glyzerolatnährböden für die

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910. p. 471.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kultivierung von schwer züchtbaren Mikroorganismen sich eignen. Hierüber soll im folgenden näher berichtet werden.

Meine Untersuchungen erstreckten sich auf Blut-, Eiereiweiß-, Eidotter-, Eiweißdotter- und Milchglyzerolate. Diese Flüssigkeiten wurden in einem Erlenmeyerschen Kolben mit der gleichen Menge Glyzerin (spez. Gewicht 1,23) versetzt und nach gründlicher Durchmischung im Eisschrank aufbewahrt. Blut, Eidotter und Milch lösten sich schnell im Glyzerin, während das Eiereiweiß infolge seiner gelatinösen Konsistenz nur unvollkommen in Lösung ging. In bestimmten Zwischenräumen wurden den Kolben mittels steriler Pipette Proben entnommen, deren Sterilität durch Einsaat in Bouillon und in verflüssigten Agar, der zu Platten ausgegossen wurde, geprüft wurde. Zu bemerken ist noch, daß zur Herstellung von Blutglyzerolaten auch defibriniertes und gewaschenes Schafblut, wie es zu Hämolyseversuchen gebraucht wird, verwendet wurde.

Nachstehende Tabelle gibt über die Sterilitätsprüfung der Glyzerolate nähere Auskunft.

	Glyzerolat von	Glyzerinzusatz	Aussaat auf Agarplatten am				
			24. 5.	23. 6.	17. 7.	26. 9.	1. 12.
I.	Kaninchenblut.						
	Probe A (steril aus der Ohrvene)	17. 2.	steril	steril	.	.	.
	Probe B (Kaninchen aus der Jugularis entblutet, Blut defibriniert)	23. 6.	.	52 Keime	10 Keime	6 Keime	steril
II.	Schafblut (defibriniert, zum Teil auch gewaschen)						
	Probe 1	30. 5.	.	nicht steril (Schimmel)	nicht weiter geprüft	.	.
	„ 2	30. 5.	.	nicht steril (Schimmel)		.	.
	„ 3	1. 6.	.	4 Keime	2 Keime	steril	steril
	„ 4	8. 6.	.	steril	3 „	„	„
III.	Eidotter.						
	Probe 1	17. 2.	steril	.	.	„	.
	„ 2	9. 6.	.	steril	steril	„	steril
IV.	Eiereiweiß.	17. 2.	steril	„	.	„	nicht steril
V.	Eiweiß + Dotter (gleiche Teile)	17. 2.	„	.	.	.	.
VI.	Milch (Handelsmilch)	27. 6.	.	.	∞ Keime	∞ Keime	7 Keime

Blut-, Eidotter- und Eiweißdotterglyzerolate waren, wie aus vorstehender Tabelle ersichtlich ist, nach 3—5 Monaten keimfrei geworden. Auffallend war, daß das Eiereiweißglyzerolat sich zunächst als steril erwies, während es bei einer späteren Prüfung als keimhaltig befunden wurde. Da eine nachträgliche Infektion infolge der bakteriziden Wirkung des Glyzerins auszuschließen ist, so kann diese Tatsache nur dadurch erklärt werden, daß das Eiweiß sich unvollständig im Glyzerin gelöst hatte. Wie sich nämlich bei einer weiteren Prüfung zeigte, war das flüssige, im Glyzerin vollkommen gelöste Eiweiß steril, im Gegensatz zu dem mehr gelatinösen Teil des Eiweißes, das sich der bakteriziden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wirkung des Glyzerins infolge seiner Unlöslichkeit entzogen hatte und infolgedessen noch nach 10 Monaten keimhaltig war. Da ich in einer früheren Arbeit[1]) außerdem feststellen konnte, daß die Eier begatteter Hühner in der Regel keimhaltig sind, während die unbegatteter Tiere sich überwiegend als keimfrei erweisen, so ist auch die Frage offen zu lassen, ob es sich bei dem keimhaltigen Eiweiß nicht um ein befruchtetes Ei gehandelt hat. Auch das mit gewöhnlicher, dem Handel entnommener Vollmilch hergestellte Milchglyzerolat war nach 5 Monaten noch nicht sterilisiert worden. Es ist jedoch unverkennbar, daß das Glyzerin auf dieses Sekret eine bakterizide Wirkung ausübt, denn die Keimzahl war von ∞ auf 5 Keime pro Platte herabgemindert worden. Nach einiger Zeit dürfte auch das Milchglyzerolat wohl noch keimfrei werden.

Von den erwähnten Glyzerolaten wurden Blut- und Eidotterglyzerolate zur weiteren Prüfung herangezogen. Die durch Vermischen von gleichen Mengen Eiweiß und Dotter hergestellten Eiweißdotterglyzerolate fanden keine weitere Anwendung, da eine gleichmäßige Verteilung dieses Glyzerolates im flüssigen Agar nur schwer zu erreichen war. Von den keimfreien Blut- und Dotterglyzerolaten wurde mittels steriler Pipette — für das zähflüssige Dotter solche mit weiter Ausflußöffnung — 0,5 ccm in verflüssigten und etwa auf 50° C abgekühlten Agar (8—10 ccm) gegeben und durch Neigen des Röhrchens gleichmäßig darin verteilt. Sind die Wattestopfen an ihrer Innenfläche nach dem Einfüllen des Glyzerolates gut abgebrannt worden, so kann eine leichtere und vollkommenere Vermischung des Agars mit dem Glyzerolate auch dadurch erzielt werden, daß man den Agar unter Vermeidung von Luftblasenbildung im Röhrchen zwischen Kuppe und Stopfen hin- und herfließen läßt. Nach gründlicher Durchmischung wurden die Agarröhrchen schräg gelegt und nach Erstarrung zwecks Sterilitätsprüfung auf 48 Stunden in den Brutschrank verbracht. Es dürfte sich jedoch empfehlen, die Glyzerolatagarröhrchen möglichst bald nach der Herstellung zu verwenden und keinen größeren Vorrat hiervon zu halten. Verschiedentlich ist es mir nämlich vorgekommen, daß Glyzerolatagarröhrchen, die ursprünglich sich als steril erwiesen hatten, nach einiger Zeit Schimmelbildung zeigten. In diesem Falle dürfte die Infektion, die auch an Kontrollröhrchen festzustellen war, auf ein Durchwachsen des Wattestopfens zurückzuführen sein. Um diesem Nachteil zu begegnen, ist anzuraten, nur möglichst frisch bereitete Röhrchen zu verwenden.

Wie schon Cantani betonte, sind die Glyzerolate natürlicherweise nur für solche Bakterien geeignet, die Glyzerin vertragen. Da die meisten schwer züchtbaren Mikroorganismen glyzerinophil sind, so wurden von den mir zur Verfügung stehenden Bakterienstämmen Diphtherie- und Tuberkelbacillen (beide Typen), Meningo-, Pneumo- und Streptokokken sowie Rotlauf-, Geflügelcholera- und Schweineseuchebacillen näher geprüft. Ueber das Ergebnis der Züchtungsversuche, verglichen mit dem Wachstum auf einem dem betreffenden Keim besonders zusagenden Nährboden, orientieren die folgenden Tabellen.

Was das Wachstum der verschiedenen geprüften Mikroorganismen anbelangt, so ist noch folgendes ergänzend zu bemerken. Tuberkelbacillen entwickelten sich auf erstarrtem Glyzerinserum besser als auf

1) Poppe, Zur Frage der Uebertragung von Krankheitserregern durch Hühnereier. Zugleich ein Beitrag zur Bakteriologie des normalen Eies. (Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 34. 1910. Heft 2.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	Hammelblut		Eidotter		Serum, Agar, Bouillon		
	24 Std.	48 Std.	24 Std.	48 Std.		24 Std.	48 Std.
Tb. Typus humanus	—	±	—	—	Serum	—	—
Tb. Typus bovinus	—	—	—	—	„	—	—
Diphtherie	+	+	+	++	„	+	++
Meningokokken	++	++	++	++	„	+	+
Pneumokokken	++	++	++	++	„	+	++
Streptokokken (Mensch)	+	++	+	++	Agar	±	±
					Bouillon	+	++
Streptokokken (Druse)	—	—	—	—	Serum	—	—
					Bouillon	—	±
Schweinerotlauf	±	±	±	±	Agar	±	±
Geflügelcholera	++	++	+	+	„	+	+
Schweineseuche	±	+	+	+	„	+	+

Tuberkelbacillen.

	Hammelblut			Eidotter			Serum		
	10 Tg.	15 Tg.	8 Woch.	10 Tg.	15 Tg.	8 Woch.	10 Tg.	15 Tg.	8 Woch.
Typus humanus	±	±	+ (±)	±	±	±	±	+	+
Typus bovinus	—	—	±	±	±	±	±	+	+

++ = üppiger Belag, + = gutes Wachstum, ± = spärliches Wachstum, — = kein Wachstum.

Blut- und Eidotterglyzerolatagar. Nach 2—5 Tagen zeigte zwar der Typus humanus auf dem Hammelblut beginnende Entwickelung; ein gutes Wachstum in Gestalt eines zusammenhängenden Häutchens, ähnlich wie auf erstarrtem Serum, war jedoch selbst nach 8 Wochen nicht festzustellen. Eine Prüfung des von Cantani als besonders geeignet für die Tuberkelbacillenzüchtung empfohlenen Blutascitesglyzerinnährbodens konnte aus äußeren Gründen nicht vorgenommen werden. Weiterhin konnte die von Capaldi[1]), Bezanson und Griffon[2]) sowie Phisalix[3]) gemachte Beobachtung, daß Tuberkelbacillen auf Eidotternährböden schnell und üppig wachsen, insofern nicht bestätigt werden, als beide Typen auf Eidotterglyzerolatagar im Vergleich mit der Kultur auf erstarrtem Serum nur ein spärliches Wachstum zeigten. Ob die Dotterglyzerolate für die Züchtung der Tuberkelbacillen in Eigelbglyzerinbouillon, die Lubenau[4]) empfohlen hat, zu verwenden sind, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Schließlich muß erwähnt werden, daß Park[5]) zur Unterscheidung der Typen die Züchtung auf dem Glyzerin-Eiermedium nach Dorset vorgeschlagen hat. Da mir diese Arbeit im Original nicht zugänglich war und im Referat nähere Angaben über die Herstellung dieses Nährbodens nicht gemacht werden, mußte auf eine Prüfung verzichtet werden.

Diphtheriebacillen entwickelten sich auf Blutglyzerolaten gleich gut wie auf Serum. Auf Eidotterglyzerolaten war das Wachstum ein

1) Zur Verwendung des Eidotters als Nährbodenzusatz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 20. 1896. p. 800.)

2) Culture du bacille tuberculeux sur le jaune d'œuf gélose. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1903. p. 603.)

3) Le jaune d'œuf comme milieu de culture du microbe de la tuberculose. (Ibid. p. 604.)

4) Der Eigelbnährboden als Ersatz des Serums zur Kultur von Diphtherie- und Tuberkelbacillen. (Hyg. Rundsch. 1907. p. 1455.)

5) Bovine tuberculosis. (Arch. of Pediatr. June 1910; Ref. Internat. Centralbl. f. d. ges. Tuberkuloseforsch. Jahrg. 5. 1910. p. 81.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

derart schnelles und üppiges, daß der Zusatz von Eigelb, der zuerst von Nasstiukoff[1]), dann von Capaldi (a. a. O.) und in letzter Zeit von Lubenau (a. a. O.) zur Kultivierung von Diphtheriebacillen empfohlen wurde, als elektiv für die Züchtung von Diphtheriebacillen zu bezeichnen ist. Da ich mich durch Ausstrichpräparate auch davon überzeugen konnte, daß die Bildung der metachromatischen Körnchen (Babessche Körperchen) auf Eidotterglyzerolatagar ebenso reichlich erfolgt wie auf erstarrtem Serum, so dürften die Eidotterglyzerolate dem Serum als vollkommen gleichwertig an die Seite zu stellen sein.

Die Züchtung von Pneumo- und Meningokokken auf Blut- und Eidotterglyzerolaten bot, verglichen mit der Kultivierung auf Serumnährböden, manche Vorteile. Besonders auf den Blutglyzerolaten zeigten die Pneumo- und Meningokokken nach 24-stündigem Aufenthalt bei 37° C ein üppigeres Wachstum wie auf gewöhnlichem Blutagar. Streptokokken vom Menschen (aus Absceßeiter gezüchtet) wuchsen auf den geprüften Glyzerolaten gleichfalls gut, während Streptokokken vom Pferd (Druse) auf Blut- und Eidotterglyzerolaten ebenso wie auf Serum nicht zur Entwickelung kamen. Da die Blutglyzerolate lackfarbene Flüssigkeiten darstellen, so ist ihre Verwendung zur Demonstration von hämolytischen Erscheinungen, die für die Diagnose von Streptokokken bei Plattenaussaaten häufig von Wichtigkeit sind, nicht möglich.

Schweinerotlauf-, Geflügelcholera- und Schweineseuchebacillen gediehen gut auf den erwähnten Glyzerolaten, ohne daß ein bemerkenswerter Unterschied gegenüber dem Wachstum auf gewöhnlichem Agar festzustellen war.

Aus meinen Untersuchungen ergibt sich folgendes:

Die nach Cantani durch Vermischen gleicher Teile albuminhaltiger Flüssigkeit und Glyzerin keimfrei gemachten Glyzerolate sind als Nährbodenzusatz zur Züchtung schwer kultivierbarer Mikroorganismen sehr gut geeignet. Gegenüber der Verwendung von frischen Zusätzen zeichnen sie sich dadurch aus, daß sie längere Zeit steril und jederzeit fertig zum Gebrauch aufzubewahren sind.

Die in vorliegender Arbeit näher geprüften Blut- und Eidotterglyzerolate bieten für die Kultivierung von Meningo- und Pneumokokken sowie Diphtheriebacillen manche Vorteile. Im besonderen kann für die Züchtung der Diphtheriebacillen das Eidotterglyzerolat als Zusatz zum Agar empfohlen werden.

Berlin, Dezember 1910.

---

1) Zur Aetiologie und klinischen Bakteriologie der Influenza. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 19. 1896. p. 474.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Nachtrag zu meiner Mitteilung: „Ueber die Darstellung von Geisselzöpfen etc.“

(Diese Zeitschrift. Bd. 57. Heft 5.)

Von Dr. **H. A. Gins**, Frankfurt a. M.

Im Anhang zu meiner Mitteilung „Ueber die Darstellung von Geißelzöpfen etc.“ habe ich erwähnt, daß das von mir angegebene, nachgefärbte Tuschepräparat auch zur Kapseldarstellung geeignet ist. Ich folge gern einer Aufforderung des Herrn Dr. Weltmann, darauf hinzuweisen, daß er in seiner Arbeit: „Ueber Endocarditis bei Pneumobacillenseptikämie“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. Heft 2) diese Art der Kapseldarstellung bereits vor dem Erscheinen meiner letzten Mitteilung publiziert hat, wie aus seinen Sätzen hervorgeht: „Ausgehend von der Tatsache, daß sich die Bakterien im Tuschepräparate durch Verdrängung der Tuscheteilchen als weiße Gebilde darstellen lassen, und die Mitteilung von Gins über die Nachfärbbarkeit von Tuschepräparaten benutzend, wollte ich durch die Differenz der Effekte die Kapseln zur Anschauung bringen. Ich verrieb also einen Tropfen bacillenhaltigen Materiales mit verdünnter Tusche, ließ das Präparat trocknen, färbte es dann mit erwärmtem Karbolfuchsin und ließ es nach kurzem Abspritzen mit Wasser an der Luft trocknen. Die Prozedur ist überaus einfach, und die Bilder sind sehr deutlich. Die Bacillen selbst erscheinen leuchtend rot gefärbt; sie sind von einem breiten, weißen Hof umgeben, dessen äußerer ovaler Kontur sich scharf von dem graubraunen Hintergrund abhebt.“

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

Busson, Bruno, Versuche zur Oberflächensterilisation ganzer Organe für die Gewinnung von Reinkulturen aus diesen, p. 464.

Doerr, R., Bemerkungen zu der vorläufigen Mitteilung von A. Tedeschi und M. Napolitani, „Experimentelle Untersuchungen über die Aetiologie des Sommerfiebers“, p. 453.

Fränkel, Ernst, Die passive Tuberkulinanaphylaxie bei Meerschweinchen und ihre Unbrauchbarkeit für die Diagnose der Tuberkulose, p. 460.

Fromme, Ueber einen atypischen Typhusstamm, p. 445.

Gins, H. A., Nachtrag zu meiner Mitteilung: „Ueber die Darstellung von Geißelzöpfen etc.“, p. 480.

Koidzumi, M., On the "species" of various Frog-Trypanosomes found in Japan, p. 454.

Poppe, Kurt, Ueber Glyzerolatnährböden, p. 475.

Schapiro, L., Ueber die Bindungsweise hämolytischer Ambozeptoren, p. 469.

Stromberg, Heinrich, Zur Frage über die Umwandlung wichtiger biologischer Eigenschaften bei Bakterien (der Enteritisgruppe), p. 401.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 58. Heft 6.
Ausgegeben am 18. Mai 1911.

Nachdruck verboten.

Variation and carbohydrate metabolism of bacilli of the Proteus group.

[From the Bacteriological Laboratory of the University of Chicago.]
By **T. H. Glenn,** Chicago, Illin., U. S. A.

Introduction.

It has been shown by many observers that changes in the chemical and physical environment of micro-organisms lead to marked variations, not only in the morphology of the cell, but also in its physiological activities. The variations in the form and staining characteristics of B. diphtheriae, the formation of long and short chains in the Streptococci, the appearance of capsules, the production of spores and development of involution forms in old cultures indicate the readiness with which unicellular organisms respond to their external environment.

The facility with which micro-organisms change their form and the mechanical difficulties involved in the observation of variations in their morphology, renders any classification of bacteria based on morphology alone very unsatisfactory. Recently, the bio-chemical characteristics of bacteria have played an important part in the study of bacterial species. The physiological activities of bacteria in different cultural media are easily studied, and under a uniform set of conditions many of the characteristics of species exhibit a remarkable degree of constancy. If uniform conditions are not adhered to, however, variations may be obtained.

Péré (1) in his researches on lactic acid produced by micro-organisms found that the same organism may produce lactic acid of the opposite optical activity, according to the quantity and the quality of the protein used. The correctness of this observation has, however, been questioned by later workers. Kruse (2) found that Staphylococci lose their liquefying power after prolonged cultivation under anaerobic conditions. Andrewes and Horder (3) record a case where Streptococci refused to attack lactose under ordinary conditions, but did so readily under anaerobic conditions. Conn (4) starting with a pure culture of a micrococcus was able to obtain by simply replating many times and selecting from the number of colonies on the plate, the one which liquefied most rapidly and the one which liquefied most slowly, a rapidly liquefying culture and one which hardly liquefied at all. Smith (5) records similar results with Proteus vulgaris. Peckham (6) has shown that organisms that may not have the power to produce indol may develop this power if allowed to grow in suitable media. Twort (7), by growing organisms in a fluid medium containing a sugar that they had not been previously able to ferment, was able to cause these organisms to ferment the sugar. Goodman (8) states that he was able by a gradual process of selection of impressed variations, to modify greatly the acid producing characteristics of the diphtheria group of organisms.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

The present paper is a report of the results of an investigation upon the variation and carbohydrate metabolism of the bacilli of the Proteus group. In view of the fact that this group of organisms is found widely distributed under varied conditions in nature, it offers a promising field for investigation.

Historical.

The members of this group of micro-organisms were first isolated by Hauser (9) who regarded them as the chief bacteria concerned in the process of putrefaction. He isolated three forms which he originally regarded as distinct species, but his later observations led him to believe that all three forms are but varieties of the same species. Since then, they have been isolated many times from sewage by many different investigators. Schnitzer (10) isolated a member of the Proteus group from a case of cystitis. Flexner (11) found it in a case of peritonitis, and Reed (12) found a Proteus organism associated with the Pneumococcus in a case of croupous pneumonia. Levy (13) isolated a Proteus form from a sample of beer yeast. Wyss (14) obtained B. vulgaris from dead fish. Silberschmidt (15), Gluckman (16), and others have isolated members of the group from infected meat.

Ward (18) studied a number of organisms of this group which he isolated from the Thames and came to the conclusion that Hauser's three species of Proteus, together with several others isolated by himself, are merely variations of one species. He considers them similar in size and form, mode of growth, formation of zooglea, etc., but as varying in detail as to rapidity of growth and liquefaction, and consequent differences in the extent and appearance of the colony, and as to the intensity of pigmentation. Fuller and Johnson (19) regard all non-fluorescent, non-chromogenic gelatin liquefying bacteria forming proteus-like colonies on gelatin, as belonging to the Proteus group. Ford (20) includes under the Proteus group all organisms which liquefy blood serum, casein, and gelatin, produce cloudiness in broth but no scum, render milk acid, then alkaline, and which ferment dextrose with gas formation. Jordan (21) includes under the Proteus group, organisms which ferment sucrose and dextrose, rarely lactose, which are for the most part vigorously proteolytic, rapidly liquefying gelatin and blood serum and precipitating and then dissolving casein.

All of the above authors seem to lay special stress on the proteolytic and fermentative properties of this group. It becomes essential, therefore, to endeavour to establish the factors which may influence either one of these characteristics.

Source of cultures.

The organisms used in this investigation were obtained from the laboratories of the University of Michigan, University of Pennsylvania, University of Illinois, University of Chicago, the laboratory of the Public Health and Marine Hospital Service, Washington and from Král's laboratory.

All cultures were rejuvenated according to the method of Fuller and Johnson. Transfers were made from the gelatin plates to slant agar. These were incubated for 24 hours and used to inoculate all the ordinary media. The cultural characteristics of each organism are given in table No. 1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

It will be seen from an examination of the table that acid is produced readily by some of the cultures, while others produce very little or none at all. If the acid producing cultures and the non-acid producing organisms of this group belong to the same species, it was thought possible to produce by selection from the descendants of the acid producing variety an organism which would produce acid readily and one which would not produce acid at all. Cultures 1 and 2 were selected. These were plated out in gelatin and typical colonies were fished out and transferred to slant agar tubes. These tubes were incubated for 24 hours and at the end of that time a sub-culture in broth was made, and from each of the 24 hour broth cultures a single bacillus was obtained by Barber's method (22). This was done in order to make sure that all of the organisms would be descendants of a single cell, so that the individual inheritance might be studied instead of averages.

Goodman, in his experiments with diphtheria bacilli made transfers direct from sugar broth to sugar broth. The direct influence of environment, as has been pointed out by Winslow and Walker (23), was not entirely excluded. These authors attempted to exclude this factor in their study of the variations in the paratyphoid bacillus by plating out each culture on a series of gelatin plates and inoculating 100 agar tubes from 100 separate colonies of each strain. Dextrose broth tubes were then inoculated from the agar slants and the acidity in each of the sugar broth tubes was determined by titration after 72 hours. Instead of making further inoculations from the broth tubes, those agar cultures were selected which in broth had shown the highest acidity for their respective types. These were plated out and from the colonies on the plates new agar streaks were made.

Winslow and Walker (23), while excluding the factor of environment, carried their cultures through three generations only and thus did not get the benefit of the accumulation of differences which might have taken place if the number of transfers had been increased.

In the present investigation, the cultures derived from a single cell were plated out and three series of cultures were made. In the first series, twenty separate colonies were isolated and inoculated into twenty sugar-free broth tubes to which 1% of dextrose had been added. After three days incubation at 37°, the acidity was determined by titration with $\frac{n}{10}$ NaOH, using phenolphthalein as an indicator. The tube giving the maximum acidity and that showing the minimum acidity were plated out and the dextrose broth tubes were inoculated from each of the plates, a separate colony being fished out for each tube.

In the second series, the cultures were plated out and 10 agar tubes were inoculated from ten separate colonies. These tubes where incubated for 24 hours at 37° C. and a tube of 1% dextrose broth was inoculated from each. The dextrose tubes were incubated at 37° C. for three days and titrated as in the first series. The tubes giving the maximum and minimum of acid were selected. Wishing to avoid all chances of dealing with organisms that might have acquired some tolerance to degrees of acidity produced in the medium by their own growth, all such were discarded; but the two agar streaks derived from the races that had shown the highest and the lowest acidity for their respective types, were

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

used. These streaks were plated out and from the colonies on the plates new agar streaks were made and dextrose broth tubes inoculated from these as before. In no case either in the plate or on the agar slant was the culture allowed to come in contact with sugar until inoculated into broth.

In the third series of cultures, the cultures were plated out as in the other series, but the colonies were transferred direct to broth tubes containing 1% of dextrose. The acidity was determined as before, but in this series the culture in the tubes producing the highest and the lowest amount of acidity were inoculated direct into sugar broth without plating out, except to determine the purity of the cultures.

In the tables are given the averages of the acid produced in the high and low series. In most cases, the organism selected in the high series produced a higher percentage of acid than the average, and the organism selected in the low series produced a lower percentage of acidity than is shown by the average of the series, but any true variation should be transferred to all of the descendants, so that the average percentage of acid produced represents a fairly good index of the variation of the acid producing power of the organism. From these tables, it is

Proteus vulgaris 1.

No.	Series I		Series II		Series III	
	High	Low	High	Low	High	Low
1	2.29	2.29	2.29	2.29	2.35	2.35
2	2.30	2.28	2.25	2.22	2.37	2.29
3	2.34	2.31	2.40	2.11	2.19	2.19
4	2.35	2.29	2.29	2.30	2.28	2.17
5	2.4	2.35	2.30	2.28	2.34	2.30
6	2.33	2.1	2.35	2.25	2.14	2.05
7	2.2	2.05	2.31	2.17	1.98	1.93
8	1.9	1.85	1.96	1.93	2.08	1.98
9	2.17	2.05	1.96	1.96	2.05	2.05
10	1.91	1.95	1.98	1.94	2.07	2.08
11	1.95	1.92	2.22	2.20	2.14	2.11
12	1.93	1.9	1.93	1.94	2.03	1.98
13	2.03	2.03	2.00	2.04	1.91	1.90
14	2.15	2.03	1.90	1.89	1.90	1.89
15	2.13	2.07	2.16	2.07	1.88	1.86
16	2.09	2.09	2.14	2.12	1.80	1.78
17	2.05	2.07	2.08	2.01	1.80	1.78
18	1.91	1.86	2.02	2.00	1.63	1.64
19	1.97	1.88	1.72	1.64	1.65	1.65
20	1.94	1.81	1.73	1.66	2.00	1.99
21	1.94	1.85	1.58	1.48	1.82	1.72
22	1.75	1.73	1.60	1.59	1.73	1.71
23	1.74	1.71	1.74	1.65	1.94	1.85
24	1.72	1.68	1.82	1.88	2.02	1.96
25	1.55	1.49	2.04	1.97	1.97	1.96
26	1.58	1.56	1.69	1.67	1.99	1.98
27	1.61	1.53	1.70	1.61	2.03	2.01
28	1.66	1.61	1.71	1.80		
29	1.62	1.63				
30	1.72	1.68				
31	2.03	1.92				
32	1.76	1.71				
33	2.07	2.03				
34	1.69	1.68				
35	1.75	1.75				

Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Proteus vulgaris II.

No.	Series I		Series II	
	High	Low	High	Low
1	2.3	2.3	2.4	2.4
2	2.2	2.18	2.4	2.37
3	2.3	2.3	2.20	2.16
4	2.38	2.28	2.08	2.12
5	2.38	2.41	2.02	1.94
6	1.97	1.91	1.87	1.78
7	2.12	2.14	2.04	1.96
8	1.84	1.78	1.90	1.90
9	1.89	1.83	1.99	2.01
10	1.9	1.86	2.1	1.84
11	2.04	1.99	2.00	1.84
12	1.89	1.86	1.91	1.88
13	1.93	1.92	2.15	2.10
14	1.88	1.88	1.78	1.75
15	1.95	1.91	1.87	1.86
16	2.02	1.93	1.79	1.77
17	1.92	1.89	1.66	1.55
18	1.63	1.65	1.68	1.68
19	1.7	1.69	1.83	1.81
20	1.68	1.69	1.95	2.09
21	1.51	1.5	1.72	1.68
22	1.52	1.56	1.97	1.94
23	1.60	1.64	2.04	2.00
24	1.77	1.81	1.96	1.80
25	1.56	1.57	2.02	1.99
26	1.57	1.59	1.91	1.90
27	1.68	1.56	1.92	1.91
28	1.82	1.8	1.92	1.90
29	1.98	1.83		
30	1.92	1.91		
31	1.86	1.83		
32	1.91	1.88		

evident that very little, if any, modification of either of the organisms has taken place as a result of the selection of slight variations in acid production. In all cases, there is a slight decrease in the power to produce acid, but this may be explained by the fact that the organism in some cases was in contact with acid so long that all of its powers may have been inhibited. In the cases where they did not come in contact with acid at all, the power to ferment sugar was gradually decreasing as a result of growth on sugar-free media. The latter conclusion seems justifiable on account of the fact that organisms which have been grown on sugar-free media for some time developed a higher power of acid production when cultivated for a short time on media containing sugar, although this power could be decreased again if the growth on sugar media was prolonged, due to coming in contact with acids produced by the fermentation of the sugar.

Since, selection of slightly impressed variation in organisms Nos. 1 and 2 failed to produce a non-acid producing culture, the cultures which orginally produced no acid were grown on media containing 2% of dextrose for varying lengths of time. I succeeded in getting two cultures to produce acid, but all the other cultures labeled Zenkeri and mirabilis failed to produce any degree of acidity after prolonged cultivation on sugar media. It is possible that continued transferring of these organisms from sugar broth to sugar broth would cause them either to

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Table I.

Number	Name of organism	Source	Morphology				Cultur				
							Nutrient broth tube		Nutrient agar tube		Gelatine plate
			Bacillus	Diameter greater than 1 μ	Motile	Spores	Scum	Turbidity	Dull	Wrinkled	Characteristic appearance
1	B. vulgaris I	U. of Chicago	+	—	+	—	—	+	—	—	+
2	B. " II	" " "	+	—	+	—	—	+	—	—	+
3	B. mirabilis	" " "	+	—	+	—	—	+	—	—	+
4	B. Zenkeri	" " "	+	—	+	—	—	+	—	—	+
5	B. cloacae I	" " "	+	—	+	—	—	+	—	—	—
6	B. " II	" " "	+	—	+	—	—	+	—	—	—
7	B. " III	" " "	+	—	+	—	—	+	—	—	—
8	B. "	Blood of Eng. Sparrow	+	—	+	—	—	+	—	—	—
9	B. vulgaris	Hygienic Lab.	+	—	+	—	—	+	—	—	+
10	B. mirabilis	" "	+	—	+	—	—	+	—	—	+
11	B. Zenkeri	" "	+	—	+	—	—	+	—	—	+
12	B. cloacae	" "	+	—	+	—	—	+	—	—	—
13	B. vulgaris	U. of Mich.	+	—	+	—	—	+	—	—	+
14	B. "	U. of Illinois	+	—	+	—	—	+	—	—	+
15	B. Zopfi	" " "	+	—	+	—	—	+	—	—	+
16	B. vulgaris	U. of Penn.	+	—	+	—	—	+	—	—	+
17	B. mirabilis	" " "	+	—	+	—	—	+	—	—	+
18	B. Zenkeri	" " "	+	—	+	—	—	+	—	—	+
19	B. cloacae	" " "	+	—	+	—	—	+	—	—	—
20	B. vulgaris	Kral's Lab.	+	—	+	—	—	+	—	—	+
21	B. mirabilis	" "	+	—	+	—	—	+	—	—	+
22	B. Zenkeri	" "	+	—	+	—	—	+	—	—	+
23	B. Zopfi	" "	+	—	+	—	—	+	—	—	+
24	B. cloacae	" "	+	—	+	—	—	+	—	—	—

regain their power of acid production or develop this power. A series of 20 transfers with a lapse of two days between each failed to cause them to ferment sugar to any appreciable degree. It should be stated, however, that all the organisms labeled Zopfii, Zenkeri, and mirabilis, with the exception of Nos. 3 and 17, grew very sparingly on all the laboratory media, although all gave the characteristic colonies on gelatin plates.

All the organisms which fermented dextrose readily, fermented saccharose, mannose, and galactose, but failed to ferment lactose, even when grown in lactose broth for several days. In the fermentation tubes containing lactose broth inoculated with these organism, there appeared good growth in the open arm, but none whatever in the closed arm. This suggested the idea that it is much easier for these organisms to get their oxygen from the air than from lactose and, therefore, this sugar is not attacked. If this conclusion were correct, it was thought possible to eause the non-lactose fermenting organisms to ferment this sugar if they were deprived of all other sources of oxygen.

Flasks each containing 100 c.c. of sugar free broth, to which 2 % of lactose had been added, were inoculated with strains of Proteus vulgaris which had failed repeatedly to ferment lactose under aerobic

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Table I.

Biology																					
features						Biochemical features															
Gelatine stab			Potato tube		Ferment. tube				Lique-faction			Gas production					Milk				Nutrient agar tubes
Deep funnel	Surface growth	Needle growth	Visible	Luxuriant	Growth in closed arm	Grows at body temperature	Facultative anaerobe	Affected by range of reaction	Gelatine	Casein	Blood serum	Dextrose broth	Lactose broth	Saccharose broth	Nitrate reduced	Indol produced	Curdled	Acid	Alkaline	Fecal odor	Chromogenesis
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	—
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	—
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	—	+	+	—
±	+	+	+	—	+	±	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
±	+	+	+	+	+	+	+	±	+ S	—	—	+	+	+	—	—	+	+	—	±	—
±	+	+	+	+	+	+	+	±	+ S	—	—	+	—	+	—	—	+	+	—	±	—
+	+	+	+	+	+	+	+	±	+ S	—	—	+	—	+	—	—	+	+	—	±	—
+	+	+	+	+	+	+	+	±	+ S	—	—	+	+	+	—	—	+	+	—	+	—
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	±	—
—	+	+	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	+	+	—	—	±	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	+	+	+	+	+	+	+	+ S	—	—	+	+	+	—	—	+	+	—	+	—
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	—
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	—
—	+	+	+	—	—	±	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	—
—	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	—	+	—	—
—	+	+	+	—	—	±	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—	+	—	+	+	—
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	—
—	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	+	+	—	—	±	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	+	+	—	—	±	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—

conditions. The flasks were then placed in jars from which the oxygen had been removed by pyrogallic acid and NaOH. The jars were allowed to stand at room temperature for 6 days, when the flasks were removed and their contents titrated against $\frac{N}{20}$ NaOH to determine the acidity. In every case, fermentation had taken place as was shown by the difference between the acid in the inoculated tube and that of a sterile control which was placed under anaerobic conditions with the inoculated flasks. The amount of acid produced was increased by inoculating a loopful of broth obtained from the lactose broth flask which showed slight amount of fermentation, into another lactose broth flask containing 100 c. c. of broth. These were placed under anaerobic conditions as in the previous case and tested after 6 days. The experiment was carried through five generations and the results are shown in the following table.

Duplicate flasks grown under aerobic conditions at the same temperature, failed to develop any acid. Fermentation tubes inoculated with these three strains of Proteus and placed under anaerobic conditions showed a growth not only in the open arm, but also in the closed one. This would seem to indicate that Proteus vulgaris can obtain its oxygen from the air much more easily than from lactose, but when it

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Table No. 2.

Organism	Per cent. of acid after 1st transfer	Per cent. of acid after 2d transfer	Per cent. of acid after 3d transfer	Per cent. of acid after 4th transfer	Per cent. of acid after 5th transfer
Control	0	0	0	0	0
Proteus vulgaris I	0.6	1	0.8	1	1.2
„ „ II	0.6	1	0.8	0.8	1.3
„ „ 13	0.6	1	1	1.9	5.1

can no longer obtain oxygen from the air it splits up lactose with acid formation.

Effect of carbohydrates on protein metabolism.

Protein digestion may, according to Peckham (6), be approximately estimated in many members of the colon group by the production of indol. Péré (1) states that a positive reaction for indol proves the disappearance of sugar in the media. Grape sugar, Kruse (2) thinks, is responsible for the variation in indol production, although he does not state whether the variation is produced by the sugar itself or its decomposition products. Smith (5) thinks the absence of indol in sugar media is due to the presence of acid. Where acid is present no indol is produced, but where acid is absent indol may be formed. Auerbach (24) showed that the acid products of fermentation set up by certain bacteria inhibit the formation of the proteolytic ferment. Kalischer (25), in experiments to determine whether the splitting of casein is due to the ferment or the living cell, found that the ferment was able to produce peptone, leucin, tyrosin, as well as ammonia and oxyacids, and is in all probability a tryptic ferment. Cacace (26) came to the conclusion that proteolysis in bacteria is similar to that in higher animals. Wherry (27), working with the cholera spirillum, found that acids produced from glucose, maltose and saccharose rapidly killed the cholera spirillum, while those from lactose and starch are not toxic. This author seems to think that the proteolytic ferment of the cholera spirillum is a tryptic ferment. Marshall (28) observed that Bacillus coli grown at 37° C for five days in 100 c. c. of peptone beef broth containing 20% of lactose failed to produce indol.

From experiments already cited, it is evident that Proteus vulgaris, under aerobic conditions, does not produce acid in lactose media, while acid is readily produced in dextrose broth. If Smith's conclusion were correct, it was thought that dextrose or any other sugar which can be fermented by Proteus vulgaris, should inhibit the production of indol, while lactose or any other carbohydrate not fermented by this organism should have no effect on indol production. A series of flasks were prepared, each containing about 100 c. c. of distilled water, to which the percentage of peptone and carbohydrate given in the table had been added. Each flask was inoculated with one loopful of a homogeneous suspension of the bacilli and placed in the incubator at 37°. Five c. c. of broth was removed after 48 hours and 24 hours thereafter for 8 days, and tested for indol with paradimethyl benzaldehyde solution [1]).

1) 4 parts paradimethyl benzaldehyde.
80 „ hydrochloric acid.
360 „ alcohol, 95%.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Table No. 3.
Effect of carbohydrates on the production of indol.

No. of Experiment	Organism	Per cent. Peptone	Per cent. Dextrose	Per cent. Lactose	Per cent. Saccharose	Per cent. Starch	Per cent. Glycerine	Indol produced Hours 48	72	96	120	144	168	192	216
	I														
1	Prot. vulg.	0.5	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
2	" "	1	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
3	" "	2	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
4	" "	0.5	0.5	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
5	" "	1	0.5	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
6	" "	2	0.5	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
7	" "	1	1	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
8	" "	2	1	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
9	" "	2	2	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
10	" "	0.5	0	0.5	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
11	" "	0.5	0	2	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
12	" "	1	0	2	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
13	" "	2	0	2	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
14	" "	1	0	0	0.5	0	0	—	—	—	—	±	±	±	±[1]
15	" "	1	0	0	1	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
16	" "	1	0	0	2	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
17	" "	1	0	0	0	1	0	+	+	+	+	+	+	+	+
18	" "	1	0	0	0	0	0.5	—	+	+	+	+	+	+	+
19	" "	1	0	0	0	0	1.0	—	+	+	+	+	+	+	+

The table shows that the production of indol takes place in the presence of peptone solution, glycerin, lactose, and starch; but saccharose and dextrose inhibit its production. In a second series of experiments B. coli and Prot. vulgaris were used for inoculation. The solutions were made up as in the first experiment and at the end of four days all the flasks were titrated against n/10 NaOH. The results are given in Table No. 4.

Table No. 4.
Effect of carbohydrates on the production of indol.

No. of Experiment	Organism	Per cent. Peptone	Per cent. Dextrose	Per cent. Saccharose	Per cent. Lactose	Per cent. Mannite	Per cent. Starch	Production of gas in F. tube	Per cent. acid four days.	Indol produced Hours 24	48	72	96	120	144	168	192	216
1	B. coli	1	0	0	0	0	0	—	0	—	+	+	+	+	+	+	+	+
2	" "	1	1	0	0	0	0	+	2.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	" "	1	0	1	0	0	0	+	1.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	" "	1	0	0	1	0	0	+	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	" "	1	0	0	0	1	0	+	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	" "	1	0	0	0	0	1	—	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	P. vulg. I	1	0	0	0	0	0	—	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	" "	1	1	0	0	0	0	+	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	" "	1	0	1	0	0	0	+	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	" "	1	0	0	1	0	0	—	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	" "	1	0	0	0	1	0	—	0	—	+	+	+	+	+	+	+	+
12	" "	1	0	0	0	0	1	—	0	—	+	+	+	+	+	+	+	+

The results indicate that in each case where acid is produced by the organism, there is an inhibition of indol production. Lactose, which

1) (I) doubtful.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

has no affect on indol production by P. vulgaris, inhibits its production in the case of B. coli as readily as does dextrose. This naturally leads to the conclusion that it is the acid and not the sugar which inhibits the production of indol.

An attempt was made to settle this point more definitely ly inoculating with P. vulgaris a sugar medium to which more than enough powdered marble had been added to neutralize the acid formed. It was found, however, that indol was not produced in any case where 1% or more of dextrose had been added to the medium. This seemed to disprove the conclusion that the inhibition of indol is due to the acid formed, but on titrating the solutions to which the marble had been added, it was found that the acid was being produced much faster than it was neutralized by the marble, so that even in this case the acid was probably the chief factor inhibiting the proteolytic action of the bacteria. As ordinary marble may contain some impurities, it was thought that the impurities in this substance may have had something to do with the results. To avoid this source of error, several flasks were prepared, each containing 100 c. c. of a 1% solution of peptone to which were added 1% of dextrose and more than enough chemically pure calcium carbonate to neutralize all acid formed, together with sufficient of a 1% azolitmin solution to give a blue color. The flasks were inoculated with Proteus vulgaris and incubated at 37°. In about 24 hours, the litmus had turned red. A flask prepared in the same manner was inoculated with B. coli and this also turned red. Flasks prepared in the same way without the addition of litmus and inoculated with B. coli or P. vulgaris, failed to produce indol in four days. The calcium carbonate, while reducing the amount of acid produced, did not keep the solution alkaline to litmus. Since acid sufficient to turn blue litmus red is able to inhibit the action of the tryptic ferment, calcium carbonate added to a medium is not sufficient to keep the degree of acidity low enough for the proteolytic ferment of P. vulgaris to act on the peptone. To obviate this difficulty a flask, prepared as in the other experiments, was inoculated with P. vulgaris and the acid was neutralized from time to time by the addition of a sterile solution of sodium carbonate to the medium. In this flask, indol was formed as soon as all the sugar had been used up. When lactic acid was added to the peptone solution which had been inoculated with P. vulgaris so that the solution was more than 0.5% acid, the production of indol was inhibited. When less than 0.5% was added, however, the production of indol was not appreciably delayed.

The above experiments seem to justify the conclusion that carbohydrates are more available to bacteria than are the proteins. In a medium containing sugar and protein substances, the sugar is usually the first attacked. When this is used up if the acid produced does not retard further action, the proteins are utilized. The inhibition of the proteolytic action is due to the acid formed and not to the sugar itself, for if the carbohydrate is not fermented the proteolytic action may not be retarded. The ferment produced by P. vulgaris seems to be a tryptic ferment.

Effect of carbohydrates on gelatin liquefaction.

Since the addition of certain carbohydrates to peptone solution inhibited the production of indol by P. vulgaris, it was thought that these sugars may also inhibit the power of these organisms to liquefy

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gelatin. Gelatin was made up in bulk and distributed to a series of flasks. One per cent. of carbohydrate was added to each flask, and the gelatin in the flasks was poured into tubes of equal diameter, so that each tube contained gelatin to a depth of 50 m. m. After sterilization, each tube was inoculated with the organism to be tested by spreading a suspension of the organism over the surface of the gelatin. The tubes were then placed in the incubator, kept at 22° C and allowed to remain for thirty days. At the end of the incubation period, the amount of liquefaction was determined by measuring the depth of the gelatin which had been reduced to a liquid state.

The results of the experiments are given in the table which follows.

Table No. 5.

Table showing the amount of liquefaction in millimeters in carbohydrate gelatin by members of the Proteus group.

No.		Plain Gel.	Dextrose	Saccharose	Levulose	Mannose	Galactose	Maltose	Lactose	Raffinose	Mannite
1	Prot. vulg. I	50	—	—	5	—	—	—	50	1	40
2	„ „ II	50	—	—	3	—	—	—	50	—	40
3	„ mirabilis	23	3	—	—	—	—	—	20	—	50
4	„ Zenkeri	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	B. cloacae I	5	8	18	25	4	50	11	10	5	8
6	„ „ II	11	35	50	8	4	50	30	10	16	50
7	„ „ III	11	12	35	25	25	40	30	30	25	50
8	„ „ IV	10	20	20	9	1	50	10	10	15	50
9	P. vulgaris	30	2	2	19	3	5	3	50	20	50
10	P. mirabilis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	P. Zenkeri	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	B. cloacae	12	12	19	10	15	40	14	20	4	50
13	B. vulgaris	19	—	—	—	—	—	—	50	—	50
14	B. „	19	—	—	—	—	—	—	15	—	50
15	B. Zopfi	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	B. vulgaris	21	—	—	2	—	—	—	35	—	50
17	B. mirabilis	30	—	—	4	2	5	3	50	—	50
18	B. Zenkeri	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	B. cloacae	25	5	12	10	15	40	16	25	17	40
20	P. vulgaris	38	—	—	—	1	3	—	50	—	50
21	P. mirabilis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22	P. Zenkeri	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23	P. Zopfi	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24	B. cloacae	20	26	50	50	50	50	25	18	25	50

The table shows that dextrose, saccharose, levulose, mannose, galactose, maltose, and raffinose, tend to inhibit the liquefaction of gelatin by all strains of P. vulgaris and by P. mirabilis, 3 and 17, while gelatin containing lactose or mannite do not retard the liquefaction of gelatin. All of the strains of P. Zenkeri, P. Zopfii, and mirabilis, with the exception of P. mirabilis 3 and 17, did not liquefy gelatin in any of the tubes, even when allowed to remain in the incubator for three months. It was found that sugars which inhibited the gelatin liquefaction by Proteus vulgaris were fermented by that organism.

To find out whether acid was produced by the fermentation of the sugars in the gelatin tubes, a second series of sugar gelatin tubes were prepared and a few drops of 1% solution of azolitmin were added to each, as well as to the nutrient gelatin control. The tubes were inoculated with P. vulgaris as in the previous experiment and incubated at 22° C. In every tube which showed liquefaction, the litmus remained

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

blue, but in all cases where gelatin was not liquified, turned decidedly red. The acid formed by the fermentation of the sugar is probably therefore, the chief factor at work in preventing gelatin liquefaction by P. vulgaris.

In view of the experiments of Ogata (29), Laborde (30), Goldthwait (31) and Lindsay (32), in which these authors seem to have demonstrated that the addition of carbohydrates to artificial digestion solutions retards the digestion of protein substances, it would seem that sugars themselves should retard the proteolytic action of bacterial ferments as well. Bearing in mind that these authors, experiments were conducted with peptic ferments, the idea might be entertained that sugars likewise exert some retarding effect in the presence of tryptic ferments such as are produced by P. vulgaris. That the mere presence of sugar is not effective, however, is conclusively demonstrated by the following experiments.

A flask containing 50 c. c. of nutrient gelatin with a reaction neutral to phenolphthalein was inoculated with P. vulgaris I and allowed to stand until completely liquefied. A portion of the liquefied gelatin was passed through a hard filter to remove the bacteria. Two series of flasks were prepared as indicated in the following table. To each of the first series of flasks one c. c. of the unfiltered gelatin was added, while to each of the second series of flasks 1 c. c. of the filtered gelatin was added. Both series were allowed to stand under the same conditions. The results for the sake of convenience are given in tabulated form.

1. 50 c. c.	nutrient	gelatin	+ 2 %	dextrose	+ 1 c. c.	filtered gelatin = no liquefaction in 20 days.
2. 50 c. c.	„	„	+ 2 %	„	+ 1 c. c.	filtered gelatin = liquefaction in 4 days.
3. 50 c. c.	„	„	+ 2 %	„	+ 1 c. c.	unfiltered gelatin + 1 c. c. filtered gelatin = no liquefaction in 8 days.
4. 50 c. c.	„	„	+ 2 %	lactose	+ 1 c. c.	unfiltered gelatin = liquefaction in 4 days.
5. 50 c. c.	„	„	+ 2 %	„	+ 1 c. c.	filtered gelatin = liquefaction in 4 days.
6. 50 c. c.	„	„			+ 1 c. c.	unfiltered gelatin = liquefaction in 4 days.
7. 50 c. c.	„	„			+ 1 c. c.	filtered gelatin = liquefaction in 4 days.
8. 50 c. c.	„	„	+ 2 %	HCl	+ 1 c. c.	filtered gelatin = no liquefaction in 10 days.

All the flasks were tested at the completion of the experiments and pure cultures of P. vulgaris were found in all of the flasks to which the unfiltered gelatin had been added while those flasks which had received the filtered gelatin proved sterile. Flasks one and three developed an acid reaction while the reaction of the other flasks remained unchanged.

The results are striking and conclusive. In those flasks to which acid had been added or which developed an acid reaction no liquefaction resulted, while in the flasks in which no acid was produced liquefaction took place at a fairly uniform rate. There can be but one interpretation of these results: the liquefaction of the gelatin was inhibited by the acid. We know from the above experiments that dextrose has no effect upon the proteolytic ferment when formed. If to the dextrose gelatin we add in addition to the filtered gelatin a suspension of Proteus vulgaris we get no liquefaction. In this case, however, the bacteria attacked

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

the dextrose, acid was formed and this acid inhibited the proteolytic action. Whether or not the presence of dextrose or the acid produced from dextrose prevents the formation of the proteolytic enzyme is not evident from these experiments, though it seems probable that dextrose alone would not be capable of exerting such an influence.

B. cloacae, unlike P. vulgaris, is able to liquefy gelatin in the presence of all the sugars tried. It was noted, however, that the liquefaction in the case of B. cloacae did not begin as quickly in the sugar gelatin tubes as in the nutrient gelatin tubes, though when it did begin it proceeded further in some cases. An initial acid production takes place in sugar gelatin tubes inoculated with B. cloacae since litmus added to these tubes turned red after 48 hours incubation at 22° C. Evidently, a small amount of acid does not interfere with the proteolytic action of B. cloacae to any great extent. Since it was shown in a previous paper (33) that the initial acidity produced by B. cloacae in a sugar protein medium may be followed by alkalinity, it is possible that the amido compounds produced by the proteolytic action of this organism tend to neutralize the acid produced, and thus keep the percentage of acid low enough to enable the proteolytic ferment to work, or the proteolytic ferment of B. cloacae may be more resistant to acid than is the ferment of P. vulgaris. This is suggestive that the proteolytic ferment of B. cloacae is more peptic than tryptic.

An attempt was made to cause the non-gelatin liquefiers to liquefy gelatin by growing them in nutrient gelatin for varying lengths of time under different degrees of temperature. Some gelatin cultures were placed in the 37° incubator and allowed to remain there for six days. The gelatin was then placed in the ice box to see if it would solidify again. The tubes on solidifying, were plated out in gelatin and ten characteristic colonies were selected and inoculated into gelatin tubes. These were allowed to stand for six days and again plated out and selections made from the colonies on the plate. Although this process was carried on through several transfers, not a single culture was obtained which would liquefy nutrient gelatin when allowed to stand at 22° for 30 days. All the gelatin tubes inoculated with the non-liquefiers and kept in the 37° incubator solidified again when placed in the ice box for a short time. The colonies on the gelatin plates were characteristic only when the gelatin was moist. If the percentage of gelatin in the medium was high, the characteristic Proteus colonies did not always develop.

The fact that Proteus Zenkeri and Proteus mirabilis do not liquefy gelatin readily or at all is hardly sufficient reason to classify these organisms as species distinct from Proteus vulgaris. Some authors have made the observation that a species of P. Zenkeri which had repeatedly failed to liquefy gelatin suddenly developed this power, while Smith (5) was able to obtain a non-gelatin liquefier from P. vulgaris. These facts would indicate that P. Zenkeri and P. mirabilis and Zopfii are varieties of P. vulgaris which have lost many of their enzymotic powers but have developed no new characteristics which would be sufficient to call them distinct species. P. Zopfii and P. Zenkeri, together with the strains of P. mirabilis which do not liquefy gelatin, all belong undoubtedly to the same variety, P. Zenkeri, and the names Zopfii and mirabilis could very well be done away with. The strains of P. mirabilis are at best intermediate forms

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

between vulgaris and Zenkeri, which need but cultivation to turn them into P. vulgaris on the one hand or P. Zenkeri on the other. The morphological characteristics are of little use in the differentiation of these organisms since under artificial conditions either may produce short rods or longs filaments, according to the kind of media used and the condition under which they are grown. P. vulgaris in all strains was negative to Gram, while P. Zenkeri was usually positive, but even this characteristic is so variable that it has no characteristic value.

None of the species of Proteus examined produced any pigment. This test was made on potato, Heinemanns synthetic medium, and on agar, to which 1 % of tyrosin had been added. In the latter medium, P. vulgaris produced a dark coloration in the medium in about 24 hours, but no pigment was developed.

Conclusions.

1. Selection of slight variations in acid production in sugar broth by P. vulgaris failed to produce any variation in the acid producing properties of this organism.

2. P. vulgaris, though not able to ferment lactose under aerobic conditions, does so when cultivated under anaerobic conditions.

3. Carbohydrates, when fermented by P. vulgaris or B. coli, inhibit the production of indol, by these organisms. The inhibition is, however, due to the acid formed and not to the carbohydrate itself.

4. The addition of more than 0,5 % of lactic acid to the culture medium inhibits the production of indol.

5. The acid formed by the fermentation of carbohydrates inhibits to a certain degree the liquefaction of gelatin by members of the Proteus group.

6. The ferment formed by P. vulgaris seems to be a tryptic ferment, while that of B. cloacae is suggestive of a peptic ferment.

7. P. Zopfii and Zenkeri are probably one and the same variety, and P. mirabilis seems to be an intermediate form between Zenkeri and vulgaris which differs in the intensity of its biochemical reactions, but not in the quality. Some strains of mirabilis examined gave similar biochemical reactions to those of P. Zenkeri, while others resembled P. vulgaris very closely.

The writer takes great pleasure in thanking Professors E. O. Jordan and Norman MacL. Harris for their suggestions and encouragement in this work.

References.

1) Ann. d. l'Inst. Pasteur. Vol. 6. 1892. p. 512.
2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 17. 1894. p. 1.
3) Lancet. Vol. 11. 1906. p. 708.
4) Journ. Boston Soc. Med. Sc. Vol. 4. 1900. p. 170.
5) Journ. Exper. Med. Vol. 2. 1897. p. 543.
6) Journ. Exper. Med. Vol. 2. 1897. p. 549.
7) Proc. Roy. Soc. Vol. 79. 1897. p. 320.

Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

8) Journ. infect. Dis. Vol. 5. 1908. p. 379.
9) Münchn. med. Wochenschr. No. 39. 1902. p. 103.
10) Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890. p. 789.
11) Johns Hopkins Hosp. Bull. Vol. 4. 1893. p. 34.
12) Johns Hopkins Hosp. Bull. Vol. 5. 1894. p. 24.
13) Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. Bd. 34. 1894. p. 342.
14) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 27. 1898. p. 143.
15) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 30. 1899. p. 328.
16) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899. p. 696.
17) Rendic. d. R. Accad. d. Lincei. Vol. 5. 1899. p. 125.
18) Ann. of Bot. Vol. 13. 1899. p. 197.
19) Journ. Med. Research. Vol. 4. 1899. p. 609.
20) Journ. Med. Research. Vol. 6. 1901. p. 211.
21) Journ. Hyg. Vol. 3. 1903. p. 7.
22) Journ. infect. Dis. Vol. 5. 1908. p. 421.
23) Journ. infect. Dis. Vol. 6. 1909. p. 90.
24) Arch. f. Hyg. Bd. 31. 1897. p. 311.
25) Arch. f. Hyg. Bd. 37. 1900. p. 30.
26) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 30. 1901. p. 244.
27) Journ. infect. Dis. Vol. 2. 1905. p. 309.
28) Journ. Hyg. Vol. 7. 1907. p. 581.
29) Arch. f. Hyg. Bd. 3. 1885. p. 211.
30) Journ. de Pharm. et Chimie. Vol. 10. 1899. p. 484.
31) Journ. Biol. Chem. Vol. 7. 1910. p. 69.
32) Science. Vol. 31. 1910. p. 311.
33) Journ. infect. Dis. Vol. 6. 1909. p. 339.

Nachdruck verboten.

Studien über experimentelle Tuberkulose der Meeresfische.

IV. Mitteilung.

Von **L. v. Betegh** in Fiume.

Mit 2 Figuren.

Es ist noch immer Gegenstand der Diskussion, ob die Warmblütertuberkuloseerreger mit denjenigen der Kaltblüter im Sinne der Immunitätslehre identisch sind oder nicht, und auch die Frage, ob die Tuberkulosebacillen der Warmblüter in solche der Kaltblüter transmutierbar sind oder nicht, ist noch eine offene. In einer schon veröffentlichten Arbeit habe ich nachgewiesen, daß die Tuberkulosekeime der Kaltblüter — Amphibien und Reptilien — selbständige Bakterienarten sind, obwohl sie mit den Warmblütertuberkulosebacillen eine gemeinsame biochemische Reaktion, die Säure-, Alkohol- und Alkalifestigkeit, besitzen, und ferner habe ich nachgewiesen, daß die Warmblütertuberkulosebacillen in Kaltblütertuberkulosebacillen sich nicht transmutieren lassen.

Nach dem Erscheinen dieser letzten Arbeit veröffentlichten Bertarelli und Bocchia[1]) ihre Untersuchungen über die experimentelle Tuberkulose bei Kaltblütern, speziell bei Fischen — Süßwasserfischen. Sie sind geneigt, aus ihren Versuchen den Schluß zu ziehen, daß Kaltblüter — Carassius auratus — mit den Tuberkuloseerregern der Warmblüter — Menschen-, Rinder- und Vogeltuberkulose — leicht zu infizieren sind. Aus den veröffentlichten Angaben kann man aber eher das Gegenteilige konstatieren. Mit Ausnahme eines einzigen Falles, wo intraperitoneal geimpfte Vogeltuberkulosebacillen in der Kiemengegend

1) Bertarelli u. Bocchia, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. p. 358.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nach 4 Monaten einen 1—1½ mm großen Tuberkel hervorriefen, scheinen die anderen Fälle überhaupt nicht zu beweisen, daß sich die Warmblütertuberkulosebacillen entwickelt haben, denn wie das die Autoren selbst bekennen, war eine Reaktion seitens der Gewebe nicht zu konstatieren. Die natürliche Folge der Entwickelung der Tuberkulosekeime wäre ja doch die reaktive Entzündung der Zellenelemente, was man nicht nur bei lebenden, sondern, wie bekannt, auch gegenüber schon abgestorbenen Keimen im Gewebe beobachten kann. Es fehlen die weiteren Beweise zur Annahme der Wahrscheinlichkeit der Vermehrung der Keime durch Verimpfung auf Nährböden oder Versuchstiere und somit das Erbringen des Beweises der Pathogenität. Das Zerstreutliegen der Keime im Gewebe ohne Tuberkelbildung, ohne Reaktion des Gewebes scheint eher die Annahme wahrscheinlicher zu machen, daß die Entwickelung der Bakterien, einerseits infolge der spezifischen biochemischen Verhältnisse des Organismus, anderseits durch die gänzlich abnormale Temperatur desselben, wenn auch vielleicht nicht aufgehoben, doch mindestens in das Latenzstadium versetzt worden ist. Solche Verhältnisse sind ja bei latenter Tuberkulose bekannt, wo in bei sonst günstigen Umständen für die Bakterien ihre Entwickelung auf sehr lange Zeit gehemmt oder verhindert wird. In den zu Versuchszwecken verwendeten 60 Stück Eidechsen entwickelte sich in keinem einzigen Falle eine typische Tuberkulose. Meine ähnlichen Versuche mit Aalen — welche den Verfassern entgangen zu sein scheinen — mit Menschen-, Rinder- und Vogeltuberkulosebacillen fielen absolut negativ aus und stehen hinsichtlich der Unmöglichkeit der Transmutation der Warmblütertuberkulosebacillen in diejenigen der Kaltblüter mit den Forschungen von anderen Autoren in vollem Einklange. Man gewinnt aus den oben erwähnten Versuchen nicht den Eindruck einer üppigen Entwickelung der Warmblütertuberkulosekeime.

In einer anderen Arbeit habe ich nachgewiesen, daß die Tuberkulosebacillen der Kaltblüter eine selbständige Art sind, welche als an verschiedene Tiergattungen angepaßte Varietäten einer gemeinsamen Art aufzufassen sind. Die vergleichenden Untersuchungen ergaben, daß zwischen den einzelnen Varietäten gewisse Unterschiede vorhanden sind, welche sich auf strukturelle und kulturelle Verhältnisse beziehen, jedoch für sich nicht hinreichend sind, dieselben als artverschieden unter sich zu bezeichnen. Dazu müßten noch die pathologischen, toxikologischen, opsonischen etc. Verhältnisse in Betracht gezogen werden.

Von den Tuberkuloseerregern der Kaltblüter habe ich zuerst die Pathogenität der Süßwasserfisch-Tuberkulosebacillen für Meeresfische beobachtet. Aus dieser Versuchsreihe ergab sich, daß die Süßwasserfisch-Tuberkulosebacillen bei Meeresfischen eine Tuberkulose verursachen, jedoch in kleiner — ca. 50-proz. — Perzentuation. Bei derjenigen Art aber, welche als Uebergangsform zwischen Meeres- und Süßwasserfisch zu bezeichnen ist, beim Aale, verursachten dieselben Bakterien 100 Proz. Tuberkulose. Bei der ersten Serie schien es wahrscheinlich, daß für die kleinere Perzentuation das Jod des Meerwassers verantwortlich gemacht werden könnte. Die Annahme fiel jedoch bei der Versuchsreihe mit den Aalen gänzlich, und es erwies sich, daß das Jod des Meeres auf die Entwickelung der tuberkulösen Prozesse keinen Einfluß hat, und daß die ausgesprochene Widerstandsfähigkeit der Meeresfische gegenüber der Fischtuberkulose zugunsten der spezifischen biochemischen Eigenschaft ihres Organismus zu verzeichnen ist. Nach dieser Versuchsserie entstand die Frage, wie verhalten sich die anderen Varietäten — Frosch-,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Blindschleichen- und Schildkrötentuberkulosebacillen — gegenüber den Meeresfischen, und wie verhalten sie sich im Körper der Uebergangsformen, des Aales. Das heißt, existieren vielleicht hinsichtlich der Pathogenität etwaige Unterschiede mitsamt den strukturellen und kulturellen Unterschieden, welche geeignet erscheinen zur Aufstellung einer Artverschiedenheit der einzelnen Bakterien, und welche eventuell bei der Differentialdiagnose herangezogen und brauchbar gemacht werden könnten?

In dieser Versuchsreihe habe ich die Frage untersucht, wie verhalten sich die Meeresfische gegenüber einer experimentellen Infektion mit Blindschleichen- und Schildkrötentuberkulosevirus, entwickelt sich eine typische Tuberkulose und in welcher Form?

Zu diesem Zwecke wurden folgende Meeresfische infiziert:

Am 8. September 1910.

No.	Art des Fisches	Bakterienmenge	Bakterienart	Infektionsmodus	Resultat
1	Crenilabrus p.	0,1 mg	TBS	intraperit.	Exitus 12. Sept. positiv
2	„ „	0,1 „	„	„	„ 12. „ „
3	Mugil cephal.	0,2 „	„	„	Getötet 24. Nov. „
4	Pagellus eryth.	0,1 „	„	intramusk.	Exitus 20. Sept. „
5	Mugil cephal.	0,1 „	„	intraperit.	Getötet 24. Nov. „
6	„ „	0,1 „	„	intramusk.	„ 24. „ negativ
7	„ „	0,2 „	TBT	intraperit.	„ 24. „ positiv
8	„ „	0,1 „	„	intramusk.	„ 24. „ negativ
9	„ „	0,1 „	„	intraperit.	„ 24. „ positiv
10	Crenilabrus p.	0,1 „	„	„	„ 24. „ negativ
11	„ „	0,1 „	„	„	Exitus 21. Sept. positiv
12	Pagellus eryth.	0,1 „	„	„	Getötet 24. Nov. negativ
13	„ „	0,1 „	„	„	„ 24. „ „
14	„ „	0,1 „	„	„	„ 24. „ „

Zur Injektion wurde eine virulente 20-tägige Glyzerinagerreinkultur-Emulsion verwendet. Gesamtmenge der emulgierten Bakterienmenge 20 mg.

TBS = Blindschleichentuberkulosebacillen. TBT = Schildkrötentuberkulosebacillen.

Sektionsbefund.

No. 1. Crenilabrus pavo. Exitus 12. Sept. In der Bauchhöhle ist eine bräunlich-rötliche, dickflüssige Masse sichtbar. Das Peritoneum matt. Zwischen den Gedärmen sind gelbliche, leicht zerreißbare Membranen zu finden. In Ausstrichpräparaten findet man mit Karbolfuchsinfärbung massenhafte Tuberkelbacillen. Der größte Teil derselben ist in Phagocyten sichtbar. Typische Segmentation nachweisbar. Mit der Elektivmethode färbt sich das Plasma der Bakterien blaßviolett. Die Sporen in- und außerhalb der Bakterien und Zellen sind scharfkantig, ovoid und in großer Menge aufzufinden. Ueberimpfung auf andere Versuchstiere nicht vorgenommen. Auf Glyzerinagarnährböden kein Wachstum.

No. 2. Crenilabrus pavo. Exitus am 12. Sept. Im Stichkanal ist das Gewebe rötlich, aus demselben quillt eine rötliche, eiterige, dickflüssige Masse hervor. In der Bauchhöhle ist dieselbe Masse nachweisbar. Peritoneum parietale und viscerale matt. Auf Leber und Eingeweiden sind kleine punktförmige Blutungen sichtbar. Im Ausstrich sind sehr viele Tuberkelbacillen sichtbar, desgleichen rote Blutkörperchen und Phagocyten. Mit der Elektivmethode sind in den Phagocyten und außerhalb derselben viele Sporen nachweisbar. Kerne der Leukocyten bleiben tingiert. Todesursache: Peritonitis acuta tuberculosa. Verimpfung auf andere Versuchstiere nicht unternommen. Auf Glyzerinagarnährböden kein Wachstum. Ein üppiges Ueberwuchern der sekundären Bakterien.

No. 4. Pagellus erythrinus. Exitus am 20. Sept. Stichkanal rötlich; zwischen den Schuppen eine seröse Infiltration. Im Stichkanal eine wenig dicke, eiterige Masse von rötlicher Farbe. Die Muskulatur rings um den Stichkanal serös infiltriert; im Stichkanal viel Detritus. Im Ausstrich sind massenhafte, typisch säurefeste, arteriöse Tuberkelbacillen. Spärlich sind auch phagocytierte Bakterien zu finden. In den Bauchorganen keine Veränderungen nachweisbar. Impfung nicht vorgenommen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No. 11. Crenilabrus pavo. Exitus am 21. Sept. In der Bauchhöhle ist ein wenig rötlich-braunes Exsudat. Peritoneum matt. Im Exsudat sind in mäßiger Menge säurefeste, arteriöse Tuberkelbacillen. Es sind vereinzelte Bakterien sichtbar, welche bedeutend länger sind, als die normalen Bakterien, und in diesen sind typische Sporen nachweisbar. Charakteristische Phagocytose. Ueberimpfung nicht vorgenommen.

No. 3. Mugil cephalus. Getötet am 24. Nov., 77 Tage nach der Infektion. Das Tier ist sehr abgemagert. In der Bauchhöhle sind folgende Veränderungen zu sehen: Das Peritoneum viscerale ist mit der Pars parietalis durch feine, fadenförmige Membranen verwachsen, sonst von normalem Aussehen. Das Mesenterium macht den Eindruck, als ob es mit feinem Sande bestreut wäre; es sind zahlreiche, kleine, gelblichgraue Tuberkelknötchen. Sie liegen dicht aneinander. Desgleichen ist eine miliare Tuberkulose der Leber zu konstatieren. Im Leberausstrich sind massenhafte säurefeste, rein arteriöse Tuberkelbacillen sichtbar. Manche Bacillen sind ziemlich lang, 2—3mal länger als normal, und sie führen ovoide oder rundliche, intensiver gefärbte Körnchen. Außerdem sind charakteristisch segmentierte Bakterien zu sehen; sie sind einzeln oder oft in Gruppen zu finden. Mitunter findet man kleine Herde, in welchen massenhafte Bakterien zu finden sind, zu einem dichten Geflechte verwachsen; sie sind auch hier rein arteriös. Phagocytierte Bakterien waren nicht nachweisbar. Die übrigen Organe scheinen normal zu sein. Verimpfung wurde nicht vorgenommen.

No. 5. Mugil cephalus. Getötet am 24. Nov. Das Tier ist etwas abgemagert. An der Oberfläche des Peritoneums sind fadenförmige Membranen zu finden, mittels welcher die Eingeweide an die Bauchwand angewachsen sind. Das Mesenterium ist frei von Tuberkelknötchen. Dagegen sind diese sehr zahlreich an der Leber nachweisbar als graugelbe, stecknadelkopfgroße Knötchen. In Ausstrichpräparaten sind zahlreiche säurefeste, arteriöse Tuberkelbacillen zu finden. Zwischen diesen typischen Bakterien sind viele schwach tingierte Bacillen zu finden, welche unzweifelhafte Degeneration oder Lyse darstellen. Die typisch tingierten Bakterien sind segmentiert und meistens länger als die Kulturbakterien. Sie liegen auch hier vereinzelt oder in Gruppen. Man trifft auch kurze, ganz homogen gefärbte Bakterien. Phagocytierte Bacillen sind nicht nachzuweisen. Tierimpfung wurde nicht vorgenommen.

No. 7 und 9. Mugil cephalus. Getötet am 24. Nov. Die pathologischen Veränderungen sind derart gleich den No. 3 und 5, daß eine Wiederholung der Beschreibung ganz überflüssig ist.

Histopathologische Untersuchung.

Durch die histopathologischen Untersuchungen sind die rein bakteriologischen bestätigt worden.

Aus der mit Miliartuberkulose infizierten Leber sind bei Paraffineinbettung Serienschnitte gemacht worden. Schnitte 5 μ dick. Färbung nach Ziehl, ferner nach C. Spengler und schließlich Parallelunterschungen mit der Elektiv- und Dahliamethode.

In den Schnitten ließen sich massenhafte Tuberkeln und Tuberkelbacillen nachweiaen. Sowohl unter der Leberkapsel, wie im Innern der Leber lassen sich zahlreiche Tuberkeln nachweisen (Fig. 1), welche sich in verschiedenen Entwickelungsstadien befanden. Im zentralen Teile der kleinsten Tuberkeln waren bündelförmig gelagerte Tuberkelbacillen sichtbar, welche mitunter 2—3mal länger sind als die Kulturbakterien. Die Segmentation war häufig sehr schön sichtbar. Was aber ihre Säurefestigkeit anbelangt, so fand man sehr verschieden tingierte Bakterien. Neben rein arteriös und sehr charakteristisch sporulierenden Bakterien sah man feine, violette, mehr oder weniger entfärbte, oft aber auch total blau gefärbte Bakterien; wie das schon auch von vielen Forschern betont wurde — C. Spengler, Much, Fontes, Gasis, v. Betegh etc. — ist die Ziehlsche Methode zur Darstellung sämtlicher Entwickelungsphasen des Tuberkulosevirus nicht geeignet. Bei diesen Untersuchungen ließ sich diese Tatsache zu wiederholten Malen unzweifelhaft nachweisen. Ringsherum um die jüngsten Tuberkeln fanden sich einzelne eliminierte Zellen mit getrübtem Protoplasma, deren Konturen noch ziemlich scharf sind. An anderen Stellen sind diese Zellen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

homogen, die Umrisse verfließen mit den Grenzen des Tuberkels, und hier und da lassen sich mehr oder weniger konturierte Zellenkerne nachweisen (Loefflersche Nachfärbung). An der Peripherie des Tuberkels sieht man aber spindelförmige Zellen, welche konzentrisch rings um die Peripherie des Tuberkels liegen. Das Plasma der Leberzellen in der Umgebung des Tuberkels ist getrübt, die Konturen der Zellkerne mehr oder weniger verschwommen. Zahlreiche Leukocyten sind auch zu finden, und man kann eine unzweifelhafte Reaktion des Gewebes nachweisen. Der zentrale Teil der größeren Tuberkeln (Okular 4, $^1/_{12}$ homog. Immersion) ist sehr homogen. Die Bakterien sind nicht säurefest, sie entfärben sich total nach **Ziehl**, oder sie nehmen eine bläuliche bis tiefblaue Farbe an. An der Peripherie solcher Tuberkeln

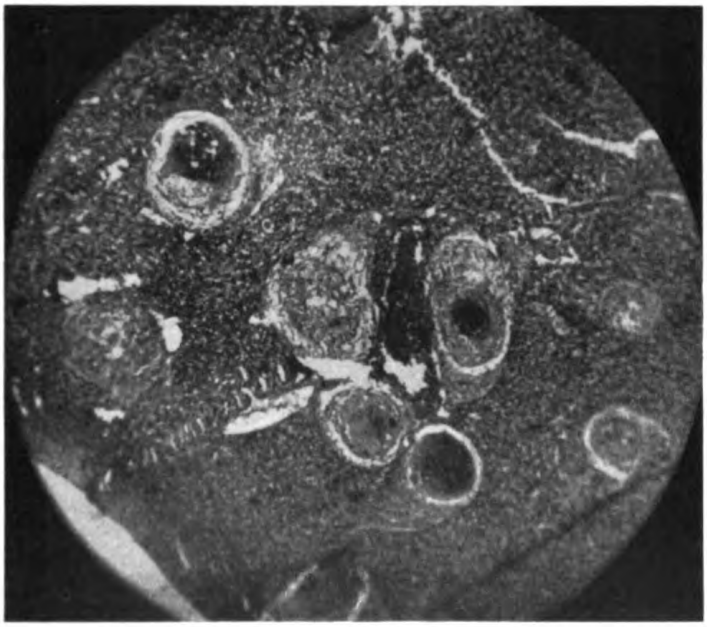


Fig. 1. Leberschnitt; Miliartuberkulose. Färbung nach C. Spengler. Okular IV, Objektiv 3.

sind sehr zahlreiche, spindelförmige Zellen sichtbar. Es ist auffallend, daß man keine Riesenzellen beobachten kann.

Wenn man einerseits die Lage, Form und Entwickelungsphasen der Tuberkulosebacillen und ihrer Sporen in den jüngsten Tuberkeln erforschen, andererseits die Art und Weise der Verbreitung derselben in noch normalem Gewebe verfolgen will, dann ist die oben erwähnte Ziehlsche Methode überhaupt nicht brauchbar. Es scheint, daß die Behandlung der Organstücke irgend auch die Tinktion der Bakterien für die Ziehlsche Färbung beeinflußt. Der Gedanke ist sehr naheliegend, denn mit der Elektivmethode lassen sich die Bakterien und ihre Sporen sehr schön und unter allen Umständen sicher darstellen. Ich will auch bei dieser Gelegenheit die Aufmerksamkeit der Forscher auf diese Methode lenken, welche zufolge ihrer Einfachheit und Sicherheit zur Darstellung der Doppelfärbung der Tuberkelbacillen und ihrer Sporen, sei es Reinkultur oder Ausgangsmaterial,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

allen anderen Methoden überlegen ist. In Schnitten (Fig. 2) z. B. ist das Gewebe ganz blaß, und man sieht nur hier und da schwach tingierte Zellkerne. Zwischen diesen stechen die roten oder violetten Bakterien und speziell die schwarzen, scharfkantigen, rundlichen oder ovoiden Sporen (Fig. 2) sehr kontrastreich ab. Sowohl in Tuberkeln, wie außerhalb derselben sieht man die elektiv gefärbten Tuberkelbacillen und Sporen. In den jungen, ganz kleinen Tuberkeln sind die Tuberkelbacillen typisch arteriös, in anderen dagegen sind sie blaßrot. Beide Typen aber führen die charakteristisch tingierten Sporen, und aus der Anzahl, Lage etc. kann man leicht die Form und Größe des Bacillus genau bestimmen, desgleichen auch die natürliche Lage der Bakterien zwischen den Zellen. Man kommt folglich zu einem neuen Verfahren der Diagnose der Säurefesten. Früher wurde als Anhaltspunkt der

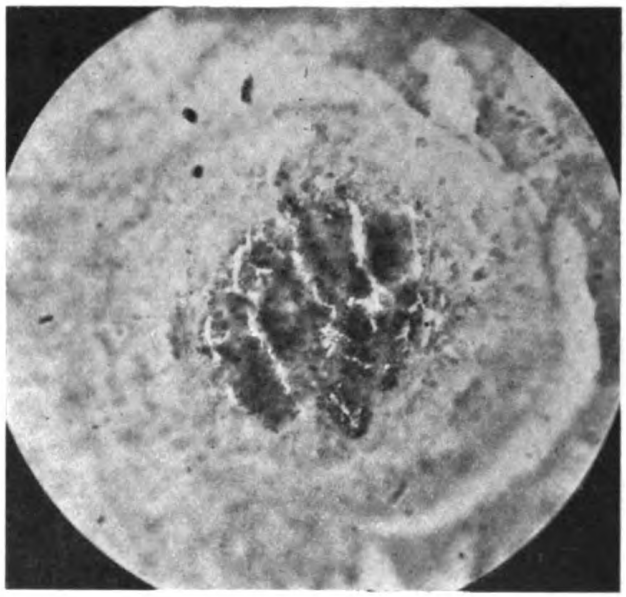


Fig. 2. Leberschnitt aus Miliartuberkulose. Färbung nach v. Betegh (Elektivmethode). Im nekrotischen Gewebe massenhafte Sporen. Homog. Immersion $^1/_{12}$, Okular IV.

Differentialdiagnose die Säurefestigkeit angenommen. Es ist, wie bekannt, schon ganz genau nachgewiesen, daß die Säurefestigkeit nicht eine beständige Eigenschaft ist. Die Diagnose kann auf Grund derselben nicht immer festgestellt werden. Wir sind nun im Besitze einer Methode, mit welcher man nicht nur aus dem Vorhandensein der säurefesten Bakterien, sondern noch viel **genauer und sicherer aus den nicht säurefesten Sporen die Diagnose auch im Gewebe stellen kann.**

Unter der Kapsel der Leber konnte man mit dieser und der Dahliamethode viele junge Bakterien nachweisen. Aus der Struktur der Tuberkeln, resp. der Bakterien im Tuberkel selbst, aus der zelligen Infiltration rings um die Tuberkeln, aus dem Vorhandensein der verschiedensten Entwickelungsphasen der Bakterien ist der Schluß zu ziehen, daß wir es mit einem progredienten Tuberkuloseprozeß mit entwickelungsfähigen, aller Wahrscheinlichkeit nach auch pathogenen Bakterien

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu tun haben. Bei allen untersuchten Fällen ließ sich dasselbe pathologische Bild genau nachweisen, was eben die obige Annahme bestätigt, auch in dem Falle, wenn wir eine direkte Impfung auf Versuchstiere aus den schon erwähnten Gründen nicht vorgenommen haben. Uebrigens ist die Frage, ob die Tuberkelbacillen lebens- und entwickelungsfähig sind, von unserem Standpunkte eine sekundäre Sache. Daß die Bakterien aber pathogen sind, beweisen die klinischen und vor allem die histopathologischen Befunde.

Die Untersuchung der anderen Organe, infolge der in der Leber festgestellten pathologischen Veränderungen, wurde nicht vorgenommen. Im besten Falle hätte man in denselben auch Veränderungen gefunden, und auch der eventuelle negative Befund hätte an dem positiven Befund in der Leber nichts geändert. Man hat sogar an einem Fische schon makroskopisch im Mesenterium miliare Tuberkulose gesehen.

Augenfällig ist der Umstand, daß in keinem Falle Riesenzellen nachgewiesen werden konnten. Uebrigens ist das Vorhandensein der Riesenzellen nicht eine conditio sine qua non für Tuberkulose. Man kann oft auch bei Hühnertuberkulose keine Riesenzellen nachweisen, und es gibt auch andere Veränderungen, wo man Riesenzellen finden kann.

Wenn wir nun das Resultat dieser Versuchsserie demjenigen der vergleichenden Untersuchungen der Kaltblütertuberkulose gegenüberstellen, in welchen die Frage der Arten berührt wurde, ferner, wenn wir auch die erste Versuchsserie in Betracht ziehen, dann können wir folgende Tatsachen feststellen:

Sowohl die Fisch-, wie die Blindschleichen- und Schildkrötentuberkulosebacillen, als par excellence Erreger der Tuberkulose bei Kaltblütern, können bei Meeresfischen unzweifelhafte, typische Tuberkulose hervorrufen. Im ersten Falle — Fischtuberkuloseserie — konnten wir ca. 50 Proz., hier 64 Proz. nachweisen. Vom Standpunkte der zweiten Frage kann man konstatieren, daß die Blindschleichen- und Schildkrötentuberkulosebacillen auch Meeresfische infizieren können, was übrigens vorauszusehen war. Also sie besitzen dieselbe Pathogenität, wie die Fischtuberkulosebacillen. Diese Eigenschaften weisen gleichzeitig darauf hin, daß die Blindschleichen- und Schildkrötentuberkulosebacillen auch außer den strukturellen und biologischen Verhältnissen auch hinsichtlich der Pathogenität von den Tuberkuloseerregern der Warmblüter verschieden sind, und man kann sie auch in dieser Beziehung als selbständige Arten betrachten, welche jedoch unter sich bloß als an verschiedene Tiergattungen angepaßte Varietäten einer Art aufzufassen sind.

Zur vollständigen Ergänzung dieser Versuche ist es unerläßlich, zu prüfen, wie sich dieselben Stämme im Körper der Uebergangsform zwischen Meeres- und Süßwasserfischen — im Aale — verhalten. Die Versuche sind im Gange, und über das Resultat wird später berichtet werden.

Ich erfülle eine angenehme Pflicht, indem ich Herrn Prof. V. v. Gauss, Direktor der Königl. biologischen Station für Meeresforschung, für die liebenswürdige Ueberlassung des Versuchsmateriales auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachtrag.

Während der Drucklegung dieser Arbeit sind zwei größere Mitteilungen erschienen, welche unbedingt berücksichtigt werden müssen. Die Abhandlung von Jancsó und Elfer[1]) bezieht sich auf die vergleichenden Untersuchungen mit den praktisch wichtigen säurefesten Bacillen. Es wurden verschiedene Untersuchungen gemacht, unter anderen auch bezüglich der Transmutation der einzelnen Typen. Ferner wurde genau verfolgt, wie sich die Warmblütertuberkuloseerreger — Menschen-, Rinder- und Vogeltuberkulosebacillen — im Organismus der Kaltblüter — Schlangen, Eidechsen, Frösche — verhalten, ob eine Transmutation der erwähnten Keime erfolgt oder nicht. Bei der Besprechung der Humantuberkulosebacillen äußern sie sich, wie folgt: „Unsere mit 7 humanen Stammkulturen an Kaltblütern vollzogenen zahlreichen Infektionsversuchen, die 3—5 Tierpassagen fortgesetzt wurden, beweisen, daß wir in keinem einzigen Falle imstande waren, unsere Stammkulturen mit solchen Eigenschaften zu versehen, daß sie eine Annäherung an die in den Kaltblütern befindlichen säurefesten Bacillen aufgewiesen hätten. Unsere unmittelbar gewonnenen Reinkulturen entwickelten sich in keinem einzigen Falle bei Zimmertemperatur, auch die Oberfläche war nicht von so nassem Aeußeren, wie die Kulturen der in den Kaltblütern vorkommenden säurefesten Bacillen.“ . . . „Während wir wahrgenommen haben, daß die längere Zeit hindurch in Kaltblütern verweilten humanen Tuberkelbacillen von ihrer den Kaninchen gegenüber bekundeten pathogenen Wirkung etwas eingebüßt haben, waren sie den Meerschweinchen gegenüber meist sehr gefährlich. Wir konnten mittels genauer Untersuchung der progressiven Passagen konstatieren, daß unsere in Kaltblüter eingeführten humanen Tuberkelbacillen sich doch nicht weiter entwickelten. Schon die Umstände, daß die veränderlichsten Formen so rasch auftreten und wir nebst der formellen Veränderung auch die Modifikation einer sehr wichtigen — und wir können es ganz getrost behaupten — einer inneren Eigenschaft, nämlich die schwache Widerstandsfähigkeit der bisher stark säurefesten Glieder verdünnten Säuren gegenüber wahrnehmen können, ferner die verschiedenen Formen der Phagocytose, all das ist ein Beweis dafür, daß die in den Körper der Kaltblüter gelangten humanen Tuberkelbacillen früher oder später meist zugrunde gehen, wobei jedoch auch entwickelungsfähige Bacillen längere Zeit hindurch in ihrem Körper verbleiben. Selbst wenn die humanen Tuberkelbacillen in Form einer Gewebsemulsion in den Körper der Kaltblüter gelangen, verbreiten sie sich sehr stark im Organismus, und wenn wir den durchschnittlichen Bacillengehalt der zu verschiedenen Zeiten verendeten Tiere prüfen, so sehen wir, daß der Bacillengehalt der einzelnen Organe, von dem Beginne der Infektion gerechnet, allmählich abnimmt, so daß das Vorhandensein derselben schließlich bloß durch Tierexperimente bewiesen werden kann, ja auch dieses Verfahren führt eventuell zu keinem Erfolge mehr. Ob die humanen Tuberkelbacillen imstande sind, in Kaltblütern eine Allgemeintuberkulose hervorzurufen oder nicht, wird durch unsere Versuche negativ entschieden.“ . . . „Aus den mit humanen Tuberkelbacillen infizierten Schlangen, Eidechsen und Fröschen gelang es uns bei Zimmertemperatur in keinem einzigen Falle,

1) Jancsó und Elfer, Vergleichende Untersuchungen mit den praktisch wichtigeren säurefesten Bacillen. (Beitr. z. Klinik d. Tuberkulose. Bd. 18. 1910. H. 2.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Reinkulturen zu gewinnen." ... „Die möglichst unmittelbare Gewinnung von Reinkulturen in Verbindung mit komparativen Untersuchungen beweisen auch bei diesen Versuchsserien ziemlich einstimmig, daß es außer unserer Macht stand, die humanen Tuberkelstammkulturen innerhalb der Versuchszeit mit Eigenschaften zu versehen, die sie in nicht modifiziertem Zustande nicht besäßen. Die in den Kaltblütern am Leben gebliebenen humanen Tuberkelbacillen behielten ihre inneren Eigenschaften, von denen wir in erster Reihe die auf künstlichem Nährboden bewahrte äußere Form, die Akkommodationsfähigkeit zur äußeren Temperatur und die den Meerschweinchen gegenüber bekundete Pathogenität erwähnen wollen."

Hinsichtlich der Transmutation der Rindertuberkulosebacillen durch Kaltblüterpassage sagen die Autoren: „Wir wollen aber sogleich bemerken, daß wir selbst im Laufe dieser wahrlich klein angelegten Versuchsserie schon nicht imstande waren, eine konstante Veränderung wahrzunehmen" ... Und schließlich über die Transmutation der Vogeltuberkulosebacillen wird die Schlußfolgerung gefaßt: „Die Zusammenstellung der Experimente zeigt, daß, wenn wir auch imstande waren, einzelne Eigenschaften der im Geflügel gewöhnlich vorhandenen säurefesten Stäbchen zu dämpfen, es doch nicht in unserer Macht stand, dieselben derart umzugestalten, daß sie eine Annäherung zu anderen säurefesten Bacillen aufgewiesen hätten. Die mit diesen Stämmen vollzogenen Modifikationsversuche waren ebenso erfolglos, wie wir dies bei unseren humanen und bovinen Tuberkelbacillenstämmen gesehen haben, und so werden durch diese konformen Versuchsresultate nur jene Ansichten bekräftigt, wonach die bisherigen Versuche nicht günstig waren."

Wenn ich nun das Endresultat dieser Versuchsserie mit meinen schon veröffentlichten Versuchen vergleiche, dann finde ich die frappante Bestätigung meiner Untersuchungen.

Und schließlich muß ich noch die Abhandlung von Rosenblat[1]) erwähnen. Vor allem muß ich bemerken, daß dem Verf. unter anderen — d'Arrigo, Dorset, Knoll, Michaelides etc. — meine übrigen Arbeiten über spezifische Färbemethoden, resp. über die feineren Strukturverhältnisse der Säurefesten entgangen zu sein scheinen. In diesen Arbeiten habe ich mich dahin geäußert, daß die Tuberkulosebacillen Sporen haben, und diese rundlichen oder ovoiden Gebilde, welche von anderen Forschern „Splitter" oder „Granula" genannt wurden, stellen die virulente Entwickelungsform des Tuberkulosevirus dar. Schon vor dem Erscheinen der Muchschen Arbeit habe ich sie als Sporen angesprochen und ihre Bedeutung hervorgehoben. In einer unlängst in diesem Centralblatt (Bd. 58. H. 1) erschienenen Arbeit habe ich bei Dunkelfeldbeleuchtung die feinere Struktur der Tuberkulosebacillen mikrophotographisch dargestellt, und aus diesen Mikrophotogrammen kann man sich leicht orientieren über die Natur dieser Gebilde, denn man sieht die verschiedensten Entwickelungsstadien der Bakterien. Die Sporen sind extra- und intracellulär sichtbar. Diese scheint Rosenblat auch nicht gesehen zu haben, desgleichen diejenigen von Knoll[2]), welche auch sehr deutlich die ganze Entwickelungsphase des Tuberkulose-

1) Rosenblat, Vergleichende Untersuchungen über neuere Färbungsmethoden der Tuberkelbacillen, nebst einem Beitrag zur Morphologie dieser Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58.)

2) Knoll, Zur Morphologie des Tuberkulosevirus. (Beitr. z. Klinik d. Tuberkulose. Bd. 17. 1910. H. 1.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

virus sehr naturgetreu wiedergeben, denn sonst wäre R. nicht zu dem Schluß gekommen, daß die Granula die inneren protoplasmatischen Partieen des Bacillenleibes darstellen und als Degenerationsprodukte aufzufassen sind. Diese neue Theorie ist meines Erachtens etwas gewagt, denn die plasmatischen Partieen können schwerlich außerhalb der Bakterien als morphologisch präzisierte Gebilde bestehen. Wohl, sie führen auch Plasmateilchen, aber sie sind lebensfähige Fortpflanzungsformen und nicht Degenerationsprodukte. Much, Wirth, Gasis und andere Forscher haben unzweifelhafte Beweise dafür schon erbracht. Wenn man nekrotische Herde mit der Elektivmethode (siehe Fig. 2 im Text) oder nach Much untersucht, dann findet man diese Gebilde in bedeutender Menge auch dann, wenn keine Spur von säurefesten Stäbchen vorhanden ist. Wir wissen, daß die säurefesten Entwickelungsformen eine bedeutende Resistenz gegen die stärksten lytischen Prozesse des Organismus zeigen. Es ist unmöglich, anzunehmen, daß die säurefeste Form früher zugrunde gehen soll, als die plasmatischen Partieen, was eben aus der Behauptung von Rosenblat folgt. Ferner ist diese neue Theorie noch von einem anderen Standpunkte als unhaltbar zu betrachten. Bekanntermaßen sind die Tuberkelbacillen ziemlich resistent auch gegen höhere Temperatur. Zur Abtötung normaler Plasmateilchen genügen schon 50—55° C, dagegen wissen wir, daß die Tuberkelbacillen auch bei 60—70° C längere Zeit lebensfähig bleiben. Es gibt sogar Forscher, die behaupten, daß zur sicheren Abtötung derselben 80—90° C erforderlich sind. Nach Schill und Fischer wird trockenes Sputum durch 100-gradige trockene Hitze erst im Verlauf einer Stunde, feuchtes nicht einmal während dieser Zeit mit Sicherheit sterilisiert. Die Resistenz kann nicht zugunsten der Wachsfetthülle verzeichnet werden. Wir wissen ferner, daß 1—2 Jahre alte sogenannte Reinkulturen von Tuberkelbacillen — Maffuccis Befunde bei Vogeltuberkulosebacillen — noch lebens- und entwickelungsfähig sein können. Plasmapartieen, auch in Bakterien, fallen nach so langer Zeitdauer der Autolyse zum Opfer, und dagegen schützt auch die Wachsfetthülle nicht. Diese Gebilde können folglich nicht plasmatische Partieen, wie das Rosenblat glaubt, sein, sondern spezifische, widerstandsfähige Entwickelungsformen des Tuberkulosevirus, was schon von vielen Forschern anerkannt wird.

Die Kombination der Ziehlschen und Gramschen Methode ist übrigens auch nicht neu, denn das hat vor Rosenblat Schmiedhoffer[1]) veröffentlicht.

Daß die Ziehl-Methode zur quantitativen Darstellung des Tuberkulosevirus den neueren Methoden — C. Spengler, v. Betegh, Much, Fontes, Gasis, Caan, Knoll etc. — überlegen wäre, ist durchaus nicht der Fall. Die Mangelhaftigkeit und Unzulänglichkeit derselben geht schon aus diesem Umstande klar hervor, daß die eben zitierten Forscher sich gezwungen fühlten, nach neueren und zuverlässigeren Färbemethoden zu suchen, welche nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ mehr leisten, als die schon wenig befriedigende alte Ziehl-Methode.

1) Schmiedhoffer, Vorlesung und Demonstration der neueren Färbemethoden im Verein der ungarischen Veterinäre. Budapest 1910.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten

Ein Beitrag zur Kenntnis der Lebensdauer von Bacterium coli und Milzbrandsporen.

Von Dr. phil. und med. **Bruno Busson,**
Assistenten am Hygienischen Institut in Graz.

Die Frage nach der Lebensdauer insbesondere von Typhus- und Cholerabacillen in den verschiedensten Wässern hat bereits eine große Zahl von Untersuchungen zur Folge gehabt, aber die ermittelten Grenzen für die Lebensdauer pathogener Bakterien in natürlichem sowie destilliertem Wasser sind keineswegs scharfe, vielmehr zeigen sich die weitgehendsten Unterschiede in den gefundenen Werten.

Es ist in der Natur der Sache gelegen, daß sich die Untersuchungen in dieser Richtung vorwiegend auf das Verhalten pathogener Formen bezogen haben. Es ist jedoch immerhin auch von einem gewissen Interesse, ausgedehntere Kenntnisse über Bacterium coli zu sammeln, da ja bei Beurteilung von Trinkwässern dem Auffinden von Coli-Keimen eine gewisse Bedeutung zukommt.

Im folgenden will ich über einen Coli-Stamm berichten, der seinerzeit in destilliertes Wasser übertragen wurde, und dessen Lebensfähigkeit ein derartig überraschendes Untersuchungsergebnis zur Folge hatte, daß ich es nicht als überflüssig erachte, die diesbezüglichen Resultate zu veröffentlichen.

Ich will nur noch die direkt einschlägige Literatur, soweit mir diese zugänglich war, vorausschicken.

Bolton fand eine Reihe von Bakterien, vorwiegend Wasserbakterien, welche sich in mehrfach destilliertem Wasser, das soweit als möglich von Salzen und organischen Substanzen befreit war, sehr stark zu vermehren vermögen, und Bolton meint, daß diese Bakterien nur eine ganz geringe Zufuhr von stickstoffhaltigen Substanzen benötigen, die sie dadurch erhalten, daß die stickstoffhaltigen Stoffwechselprodukte immer wieder aufs neue zerlegt werden. Als wichtiger Faktor komme der eventuelle Kohlensäuregehalt und die Temperatur des Wassers in Betracht. Von den hier interessierenden Bakterien, die er auf ihre Lebensdauer im destillierten Wasser untersuchte, kommt Bacterium typhi in Betracht, das aber nur durch 30 Tage lebensfähig blieb.

Weitgehende und aufklärende Untersuchungen machte Ficker. Er fand, daß reines destilliertes Wasser eine sehr bakterizide Wirkung auf die in dasselbe übertragenen Mikroorganismen ausübt, falls die Bakterien ohne Nährsubstanz und in nicht allzu großer Menge in dasselbe übertragen werden.

Unter Umständen genügt schon die durch das destillierte Wasser aus den Glaswänden ausgelaugte Alkalimenge, um konservierend zu wirken und die Keime durch längere Zeit am Leben zu erhalten. Bei größerer Aussaat tritt eine natürliche Auslese ein, die den neuen Verhältnissen resp. osmotischen Störungen größeren Widerstand entgegen setzenden Keime überdauern, und bilden einen neuen Stamm, dem vielleicht zur Fortsetzung des Lebensprozesses lediglich die zerstörte Zellsubstanz der toten Keime als Stickstoffquelle dient.

Ebenso jedoch wie die geringen Alkalimengen konservierend wirken, können umgekehrt geringste Mengen gelöster anderer Substanzen (Metalle)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die bakterizide Wirkung des destillierten Wassers sehr beträchtlich erhöhen, und wir begegnen einer Erscheinung, die Ficker nach Nägeli die „oligodynamische Wirkung“ nennt.

Nach Kraus findet der Untergang der pathogenen Mikroorganismen im reinsten „Quellwasser“ ebenso rasch wie in stark verunreinigten Brunnenwässern statt.

Konradi bestimmte die Lebensdauer für Typhusbacillen in sterilem Wasser mit 30—499 Tagen, in destilliertem Wasser mit 420—499 Tagen beobachtet bei Körpertemperatur.

Nach Karliński sind pathogene Bakterien überhaupt nicht imstande, im Wasser sich längere Zeit lebend zu erhalten, und er fand Bacterium typhi darin nach 6 Tagen, Milzbrand und Cholera aber bereits nach 72 Stunden abgetötet.

In destilliertem Wasser degenerieren nach den Untersuchungen von Braems die meisten Bakterien sehr schnell und nur für Bacterium typhi konnte eine 60-tägige Lebensdauer erwiesen werden.

Straus und Dubarry konnten in sterilem und destilliertem Wasser die Grenzen für die Lebensdauer von Typhusbacillen mit 81, für Cholera mit 39 Tagen bestimmen.

In den Tabellen von Gotschlich findet sich die längste für Typhusbacillen im sterilen destillierten Wasser beobachtete Lebensdauer mit 188, in sterilem Quellwasser mit 30 Tagen angegeben.

Wenn Typhusbacillen allmählich auf mit Wasser mehr und mehr verdünnten Nährböden weitergezüchtet werden, dann entfalten sie nach Frankland bei Uebertragung in reines Wasser eine bedeutend größere Lebensfähigkeit, als wenn sie direkt von festen Kultursubstraten in Wasser überimpft werden.

Shiga-Kruse-Bacillen blieben nach Vincent in sterilem destillierten Wasser durch 10—12 Tage, nach Pfuhl 5—9 Tage am Leben.

Während die Lebensbedingungen des Bacterium coli in sterilisierten und nicht sterilen natürlichen Wässern schon öfters untersucht wurden, ist es mir nicht gelungen, in der Literatur Angaben über die Lebensdauer dieses Mikroben im sterilen destillierten Wasser zu finden.

Im Juli 1904 wurde ein nach seinem morphologischen und biologischen Verhalten typisches Bacterium coli, das aus Brunnenwasser gezüchtet war, in 50 ccm sterilisierten destillierten Wassers mit der Absicht überimpft, die Lebensdauer resp. die Resistenz dieses Coli-Stammes unter den gegebenen Verhältnissen kennen zu lernen. Das destillierte Wasser befand sich in einer weiten Eprouvette, deren oberes Ende nach der Impfung im Gebläse ausgezogen und zugeschmolzen wurde. Bei der Ueberimpfung wurde, soweit dies möglich war, jede Mitübertragung von Nährsubstanz dadurch zu verhindern gesucht, daß mit der Oese ein wenig von der oberflächlichsten Partie einer Agarkultur abgenommen und sofort in das destillierte Wasser übertragen wurde.

Nunmehr wurde die so beimpfte und geschlossene Eprouvette in einen Laboratoriumsschrank gestellt, also bei Lichtabschluß aufbewahrt. Die Temperatur war jene der Zimmerräume selbst, mithin sehr wechselnd, da beispielsweise während der Nächte im Winter, während welcher die Zentralheizung nicht im Betrieb ist, recht beträchtliche Temperaturdifferenzen zustande kommen. Von Zeit zu Zeit (alle 3—4 Monate) wurde die Eprouvette geöffnet und eine kleine Probe mittels des Gelatineplattenverfahrens untersucht, die Eprouvette selbst wieder zugeschmolzen resp. später mit Siegellack vergossen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seit der Impfung sind nunmehr bereits $6^3/_4$ Jahre vergangen, und noch immer erweist sich dieser Coli-Stamm lebend und wächst als Reinkultur in typischer Weise auf den Gelatineplatten. Ueberdies hat dieser Stamm nicht eines der ihm seinerzeit eigenen Stammmerkmale verloren, alle in Betracht kommenden Nährböden erleiden die für einen typischen Coli-Stamm charakteristischen Veränderungen in genau derselben Weise, und alle einem echten Coli-Bacillus zukommenden Charaktere finden sich trotz der eigenartigen Lebensbedingungen ungeschmälert erhalten.

Ich konnte mich während der Dauer meiner Beobachtungen überzeugen, daß es sich nicht um eine einfache Konservierung der seinerzeit eingeimpften Bakterien handelt, sondern es hat im Laufe der Zeit eine deutliche Vermehrung der Keime stattgefunden, was sich überdies auch an dem zunehmenden Sediment in ausgesprochenem Maße zu erkennen gab. Leider wurden in dem größten Teile der Beobachtungszeit keine systematischen Zählungen vorgenommen, so daß eine ziffernmäßige Darstellung über die Wachstumsverhältnisse nicht gegeben werden kann. Das Sediment aber besteht zum allergrößten Teile aus lebenden Bacillen.

Nach den Untersuchungen Fickers ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß aus der Glaswand in das destillierte Wasser jene Alkalimengen übergegangen sind, welche nicht bloß die bakterizide Wirkung des destillierten Wassers aufzuheben vermögen, sondern sogar eine auf natürlicher Auslese beruhende Vermehrung der Keime gestatten. Selbst wenn wir weiterhin annehmen, daß bei der Ueberimpfung kleinste Mengen von Nährmaterial mitübertragen worden wären, so bleibt es immerhin frappierend, daß ein Mikroorganismus, der keine Sporen bildet, unter den geschilderten Lebensbedingungen durch so lange Zeit zu persistieren vermag. Wir können diesen Kreislauf des Lebens bei vegetativen Formen wohl nicht anders erklären, als daß die jeweiligen Stoffwechselprodukte immer wieder neu zerlegt und als Stickstoffquelle zur Nahrung verarbeitet werden.

Nach $6^1/_2$ Jahren wurde nun aus der Eprouvette je 1 ccm dieses coli haltigen, destillierten Wassers in 500 und 250 ccm sterilen Leitungswassers übertragen, und in den ersten Kolben zugleich 15 ccm frisches Leitungswasser eingegossen, dessen Keimgehalt pro Kubikzentimeter mit 8 Keimen, in der Gesamtmenge also mit 120 bestimmt wurde. In den Originalröhrchen betrug die Zahl der Coli-Keime nach nunmehr $6^1/_2$ Jahren pro Kubikzentimeter und nach Aufwirbeln des Bodensatzes 388 500 Keime, so daß nach der Einsaat der erste Kolben pro Kubikzentimeter 777, der zweite 1554 Coli-Keime enthielt. Durch diesen Versuch wollte ich zunächst durch Vermischung von Wasserkeimen und diesem Coli-Stamm einerseits, andererseits durch die Weiterzüchtung des Coli-Stammes allein im Leitungswasser weiteres über die Lebensfähigkeit dieses unter so außergewöhnlichen Bedingungen gezüchteten Stammes erfahren.

Die auffallend geringe Aussaat der Wasserkeime erklärt sich damit, daß ja in kürzester Zeit ein beträchtliches Anwachsen derselben zu erwarten stand, so daß für unseren, nunmehr unter andere Lebensbedingungen gestellten Coli-Stamm die Aussichten, sich neben den Wasserkeimen lebend zu erhalten, ohnehin bald stark verringern mußten.

Ueber die durch diesen Versuch erhaltenen Aufschlüsse über die Lebensfähigkeit und Wachstumsverhältnisse unseres Coli-Stammes

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:28 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

unter obigen Versuchsbedingungen berichtet die folgende Tabelle. Dazu möchte ich nur noch bemerken, daß beide Kolben dem Lichte und der wechselnden Zimmertemperatur ausgesetzt waren, ferner daß das Vorhandensein von Coli-Keimen im ersten Kolben späterhin durch Zuckeragarvergärung bei 37° C nachgewiesen wurde, da bereits am 4. Versuchstage die Wasserkeime derart überwuchert hatten, daß Gelatineplatten nach 24 Stunden bereits völlig verflüssigt waren, und daß auch bei Verdünnungsversuchen die Zahl vorhandener Coli-Keime gegenüber den ersteren so weit zurücktrat, daß sie sich zumeist nicht feststellen ließ. Wo dies möglich war, ist es in der Tabelle verzeichnet, sonst wird der qualitative Coli-Nachweis einfach mit positiv bezeichnet. Es ist selbstverständlich, daß schon zur Zeit der ersten Aussaat die im Wasser vorhandenen Keime auf ihre Gärfähigkeit geprüft wurden, die, wie zu erwarten, negativ ausfiel. Ueberdies wird unser Leitungswasser seit Jahren täglich untersucht, und es wurde darin niemals B. coli nachgewiesen.

Tabelle.

Zeit der Probeentnahme nach der Aussaat: in Tagen	1. Kolben mit 500 ccm sterilisierten Leitungswassers + 15 ccm nicht sterilisierten Leitungswassers entspricht einer Gesamteinsaat von 120 Wasserkeimen. Die Coli-Einsaat betrug pro Kubikzentimeter 777 Keime	2. Kolben mit 250 ccm sterilisierten Leitungswassers. Die Coli-Einsaat betrug pro Kubikzentimeter 1554
1	882	1 134
4	positiv	1 044
7	„	1 600
10	„	—
12	„	2 658 400
21	„	325 123
31	„	604 550
45	negativ	263 940
59	„	200 000
73	„	72 000
93	„	2 953

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, konnte sich das B. coli neben den Wasserkeimen nicht allzulange erhalten, und schon nach dem 31. Tage blieb der Coli-Nachweis negativ. Die Zahl der Wasserkeime selbst, die zunächst rapid zugenommen hatten, fiel etwa um dieselbe Zeit stark ab, und es traten immer dominierender die Kolonieen von B. fluorescens liquefaciens auf, welches Bakterium auch am 93. Tage als Reinkultur (410 Kolonieen pro Kubikzentimeter) auf den Gelatineplatten wuchs. B. fluorescens liquefaciens hatte somit, jedenfalls mit Hilfe jenes ihm eigenen Pyocyanase-ähnlichen, bakteriziden Produktes, das Feld behauptet.

Im 2. Kolben geben die gefundenen Zahlen recht interessante Aufschlüsse, so zunächst über das rapide, plötzliche Ansteigen der Keimzahl und den nachfolgenden mehr allmählichen Abfall derselben.

Leider wurden äußerer Gründe halber diese Beobachtungen nicht völlig abgeschlossen.

Der zweite Fall, über den ich berichten will, betrifft die hohe Resistenz von an Seidenfäden angetrockneten Milzbrandsporen.

Ueber lange Lebensdauer resistenter Milzbrandsporen berichten einige Autoren. So gelang es aus an Seidenfäden angetrockneten Sporen Koch nach 4, di Mattei nach 8—10, Ajello nach 12 Jahren noch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

infektionstüchtige Keime zu züchten. Pasteur kultivierte aus verscharrten Kadavern nach 12 Jahren und Szekely aus eingetrockneten Kulturen nach 18 Jahren noch Milzbrandbacillen.

Vor nunmehr 17 Jahren trocknete Herr Prof. Dr. Hammerl Milzbrandsporen an Seidenfäden an, und da ich zurzeit gerade mit Desinfektionsversuchen beschäftigt bin, wurde der Versuch gemacht, ob vielleicht die an jenen Seidenfäden angetrockneten Sporen noch lebensfähig seien.

Aus den in Bouillon übertragenen Seidenfäden entwickelten sich aus den angetrockneten Sporen Milzbrandreinkulturen von äußerst charakteristischem und lebhaftem Wachstum. Auch die Virulenz scheint während der langen Dauer der Antrocknung nicht gelitten zu haben, denn $^1/_2$ Oese Agar- oder Kartoffelkultur vermag weiße Mäuse in 16—24 Stunden sicher zu töten.

Allerdings war es zunächst nicht möglich, die vegetativen Formen, obgleich sie direkt aus Sporen sich entwickelt hatten, selbst wieder zur Sporenbildung zu bringen.

Nachdem verschiedene Versuche in dieser Richtung fehlgeschlagen waren, wurde die Kultur auf 2-proz. Lithiumchloridagar versucht, und nunmehr trat auch wieder die Sporenbildung schön zutage.

Aus jenen Milzbrandsporen, welche somit durch 17 Jahre an Seidenfäden angetrocknet waren, entwickelten sich lebenskräftige, für weiße Mäuse äußerst virulente vegetative Formen, welche neben ihren sonstigen charakteristischen Merkmalen auch das Vermögen der Sporenbildung, letzteres allerdings unter ganz bestimmten Verhältnissen, sich erhalten hatten.

Literatur.

Ajello u. Drago, Gaz. d. Osped. e d. Clin. 1898. No. 3.
Bolton, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886.
Braem, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. Bd. 7.
Cao, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. 37. 1906.
Ficker, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 29. 1898.
Frankland, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 19. 1895.
Gotschlich, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. 1. 1903.
Karliński, Wien. klin. Wochenschr. Bd. 19. 1906.
Konradi, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1909.
Kraus, Arch. f. Hyg. Bd. 6. 1887.
Di Mattei, Ann. dell' Istit. d'Ig. sperim. d. R. Univ. di Roma. Vol. 4. 1894.
Pasteur, Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. 92. 1881.
Pfuhl, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 40. 1902.
Straus u. Dubarry, Arch. de méd. expér. 1889.
Szekely, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 44. 1903.
Vincent, Compt. rend. de la soc. biol. T. 51. 1906.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Studien über das Variieren und das Wesen der Abschwächung des Milzbrandbacillus.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität Budapest (Direktor: Prof. Dr. H. Preisz).]

Von Prof. Dr. **H. Preisz.**

Mit 2 Tafeln.

In einigen vorläufigen Mitteilungen[1]) habe ich bereits darauf hingewiesen, daß die Virulenz der nach der Pasteurschen Methode abgeschwächten Milzbrandbacillen laut meiner Untersuchungen deshalb abnimmt, weil durch den Abschwächungsprozeß das Kapselbildungsvermögen und mit diesem die Widerstandsfähigkeit der Bacillen im tierischen Körper gewisse Aenderungen erfährt. Ferner gab ich an, daß ein und dieselbe abgeschwächte Kultur eine ganze Reihe von Varietäten enthalten kann, die voneinander sowohl kulturell und mikroskopisch, wie hinsichtlich ihrer Virulenz höchst verschieden sein können. Durch anderweitige Arbeiten verhindert, wurde es mir erst jetzt möglich, die Ergebnisse meiner diesbezüglichen, bereits vor Jahren gemachten Untersuchungen ausführlicher niederzuschreiben.

Im staatlichen Bakteriologischen Institut war es seinerzeit eine meiner amtlichen Obliegenheiten, die vom Budapester Pasteur-Chamberlandschen Laboratorium zum Vertrieb gelangenden Impfstoffe zu kontrollieren. Ein wichtiger Teil dieser Kontrolle war, festzustellen, ob die Impfstoffe rein, d. h. nicht von fremden Mikroorganismen verunreinigt sind. Ich ging zu diesem Zwecke gewöhnlich derart vor, daß ich vom Impfstoffe auf Agar-Agar Kulturen anlegte.

Gelegentlich dieser Arbeiten habe ich im Laufe der neunziger Jahre die Beobachtung gemacht, daß aus dem Milzbrandimpfstoffe auf Agar häufig nicht gleichmäßige, d. h. einerlei, sondern sehr verschieden aussehende Kolonieen aufgingen. Solche Agarkulturen boten bisweilen ein derart buntes Bild, daß ich dieselben unmöglich für Kolonieen ein und derselben Bakterienart halten konnte; einzelne Kolonieen waren vom allgemein bekannten Typus der Milzbrandkolonieen so sehr abweichend, daß ich nicht zögerte, diejenigen Impfstoffe, aus denen solche Kolonieen gediehen waren, als durch fremde Bakterien verunreinigt zu erklären.

Dieses Urteil schien mir damals um so mehr begründet, da die aus diesen fremdartigen Kolonieen stammenden Bakterien auch mikroskopisch sowohl von den normalen Anthraxbacillen, wie auch von den aus den Impfstoffen gewachsenen übrigen, den Milzbrandkulturen doch mehr oder weniger ähnlichen Kolonieen stammenden Bacillen grundverschieden aussahen. Besonders auffallend erschienen in diesen, vom Impfstoff gewonnenen Kulturen jene Kolonieen, welche strukturlos, durchsichtig, schleimartig, mit der Platinnadel berührt fadenziehend sich zeigten und schon nach 24 Stunden bei 37° C auf der schrägen Agaroberfläche zusammen- und niederflossen. Diese Kolonieen, die sowohl makro- wie auch mikroskopisch von normalen Milzbrandbacillen sehr verschiedene Eigenschaften aufwiesen, hielt ich entschieden für eine

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 44 u. 47.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schleimbildende fremde Bacillenart. Ich gestehe zu, daß für diese meine Anschauung einigermaßen die Annahme maßgebend gewesen sein dürfte, daß der normale Anthraxbacillus selbst durch das Pasteursche Abschwächungsverfahren seine kulturellen und morphologischen Eigenschaften denn doch nicht in so auffallender Weise ablegen könne; denn wäre dies möglich, so müßten sich unsere Ansichten über die Beständigkeit der Arteigenschaften und über die Entstehung neuer Varietäten und neuer Arten gründlich ändern. Indessen, je mehr Impfstoffe ich untersuchte, desto mehr näherte ich mich der Erkenntnis, daß diese aus der Vaccine gezüchteten, obgleich einander sehr unähnlichen Kolonieen doch Milzbrandkolonieen sein müssen.

Zu dieser Erkenntnis gelangte ich durch die Beobachtung solcher aus Vaccine erhaltener Agarkulturen, in welchen sehr verschiedenartige, namentlich aber auch Uebergangskolonieen zu sehen waren. Auf diesen Agarflächen sah ich neben typischen Anthraxkolonieen auch viele solche, die einen Uebergang zu den bereits erwähnten zusammen- oder abfließenden Kolonieen bildeten.

Gleichzeitig machte ich die Erfahrung, daß die mit diesen verschiedenen atypischen Kolonieen infizierten kleinen Versuchstiere der Milzbrandinfektion ganz entsprechend eingingen, und daß die in den Organen und im Blute dieser Tiere vorgefundenen Bakterien sich dem normalen Milzbrandstäbchen bereits viel ähnlicher zeigten, als man es nach der grundverschiedenen Kultur hätte erwarten können.

Nun wurde es mir klar, daß die aus dem Milzbrandimpfstoffe gewonnene Agarkultur mit ihren bunten verschiedenen Kolonieen sämtlich mehr oder minder wesentlich abgeänderten Milzbrandkeimen angehören. Und zwar äußerte sich die Abänderung am augenfälligsten darin, daß gewisse Keime schon auf Agar-Agar mehr oder minder rasch Schleimkapseln bilden, und daß der Schleim dieser Kapseln bald fest und zähe, bald aber dünn und zerfließend ist. Dieses ist das Wesentliche des kulturellen und mikroskopischen Verhaltens jener fremdartig aussehenden Kolonieen aus den Pasteurschen Impfstoffen.

Obgleich ich somit auf Grund umfangreicher Züchtungs- und Tierversuche keine Zweifel mehr hegte, daß die aus der Pasteurschen Vaccine gezüchteten und so gründlich veränderten Bakterien dennoch nur dem Milzbrandbacillus entstammende Varietäten sein können, so hielt ich es selbstverständlich doch geboten, den Versuch zu machen, solche Varietäten aus normalen virulenten Milzbrandbacillen selber experimentell zu erzeugen, um mit eigenen Augen, gleichsam unter meinen Händen die veränderten Rassen des abgeschwächten Milzbrandbacillus entstehen zu sehen.

Dies gelang mir später auch in vollstem Maße, was ich hier nur beiläufig erwähnen will.

Bevor ich meine Untersuchungsergebnisse mitteile, möchte ich noch folgendes bemerken.

Stellt man eine Agarkultur eines normalen virulenten Stammes an die Seite einer Kultur einer abgeschwächten Varietät von schleimigkonfluierendem Charakter, so würde ohne weiteres kaum ein Bakteriologe diese zwei Keimwesen für ein und dieselbe Art halten; und doch ist die eine in wenigen Wochen aus der anderen hervorgegangen.

Ich gestehe, daß diese Erfahrung meine Ansicht über die Beständigkeit der typischen Arteigenschaften nicht wenig abgeändert hat; denn es ist doch die Vermutung naheliegend, daß der Milzbrandbacillus auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in der freien Natur eine ähnliche Variierung erleiden kann, wie man sie im Laboratorium durch planmäßiges Eingreifen erzielen kann.

Die weitgehendsten Varietäten, die man so züchten kann, sind aber kulturell und morphologisch von den virulenten Urstämmen so grundverschieden, daß man sie ohne Kenntnis ihrer Abstammung ganz unmöglich mit den letzteren für artgleich ansprechen könnte. Die in der Literatur als milzbrandähnliche oder als Pseudoanthraxbacillen beschriebenen Bakterien sind kulturell und morphologisch dem echten Milzbrandbacillus weit ähnlicher. Eine konfluierende schleimige Varietät des Milzbrandbacillus dagegen würde man eher in die Gruppe der Kapselbacillen (Rhinosklerom etc.) als zum Milzbrandbacillus einreihen, falls man ihm in der Natur begegnete.

Es ist zwar verständlich, daß so schnell wachsende Lebewesen, wie es die Bakterien sind, die ja von Stunde zu Stunde neue Generationen erzeugen, unter gewissen veränderten Lebensbedingungen binnen einer unverhältnismäßig kürzeren Zeit neue Eigenschaften erwerben können, als es höhere Lebewesen vermögen; daß aber dies beim Milzbrandbacillus schon innerhalb weniger Wochen erfolgen kann, ist gewiß überraschend und dürfte bei der Systematisierung verwandter Bakterienarten sehr zu beachten sein. Es liegt mir ferne, auf den im weiteren Sinne gedachten (Nägelischen) Polymorphismus der Bakterien hinzuzielen; im Gegenteil möchte ich betonen, daß viele Bakterienarten (z. B. B. typhi, coli, Schweinerotlauf) durch die Einwirkung des Pasteurschen Abschwächungsverfahrens (bei 42,5° C) eines ähnlichen tiefgehenden Variierens meiner Erfahrung nach durchaus unfähig sind. Nichtsdestoweniger ist es kaum zweifelhaft, daß die Bakterien auch unter den in der Natur gegebenen Bedingungen stets variieren, und daher kommt es, daß wir heutzutage kaum mehr eng umschriebene pathogene Arten kennen, sondern gezwungen sind, von mehr oder weniger ähnlichen Arten, von Gruppen verwandter Bakterien zu reden. Ich habe nur auf den reichen Verwandtschaftskreis der Streptokokken, Pneumokokken, Friedländerschen Pneumobacillen, Meningokokken hinzuweisen, um die obigen Worte zu erläutern.

Kulturelle und mikroskopische Eigenschaften der abgeschwächten Varietäten.

Zum Studium der Varietäten des Pasteurschen Impfstoffes fand ich den Agar-Agar am geeignetsten seiner Durchsichtigkeit und auch anderer Eigenschaften wegen.

Da ich auf die kulturellen Eigenschaften der Varietäten eingehen werde, erachte ich es für notwendig, dem Leser die wichtigsten Eigenschaften der normalen Milzbrandagarkultur in Kürze vorzuführen. Diese sind folgende:

1) Die Kolonieen sind flach, nicht stark hervorragend, an den Rändern mit haarlocken- oder rankenförmigen Fortsätzen, wodurch die Umrisse der Kolonieen unregelmäßig, gleichsam aufgefasert erscheinen.

2) Die Oberfläche der Kulturen ist nicht glatt und glänzend, sondern glanzlos, weil uneben und rauh.

3) Die Farbe der Kolonieen ist nicht weiß, sondern annähernd grau oder etwas grünlich.

4) Bei durchfallendem Lichte und auf dunklem Grunde betrachtet sind die Kolonieen nicht homogen, sondern sie zeigen auch mit freiem Auge wahrnehmbare, in verschiedenen Richtungen ziehende Streifchen, sie sind gestrichelt (Taf. II, Fig. 1).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5) Die Kultur ist nicht schmierig, sondern zähe und konsistent, so daß bei der Berührung mit der Platinnadel nicht nur das mit der Nadel gefaßte Teilchen, sondern auch dessen weitere Umgebung ausgehoben wird, gleichsam als wenn man Stroh mit einem Stabe hebt.

Alle diese Kultureigenschaften finden ihre Erklärung darin, daß die normalen Milzbrandstäbchen während ihres Wachstums lange, nebeneinander liegende Fäden und aus solchen bestehende Zöpfe und Locken bilden, die, sich verfilzend, an den Rändern der Kolonie frei auslaufen.

Ich bemerke, daß ich hier nur die jungen Kulturen im Auge habe, in denen sich weder eine größere Anzahl von Sporen, noch sekundäre Kolonieen entwickelt haben.

Die eben vorgeführten Merkmale sind es, welche bei den Kolonieen der aus den Impfstoffen gezüchteten Varietäten mehr oder weniger, oft auch gänzlich fehlen.

Die Ränder der Kolonieen von abgeschwächten Varietäten sind entweder weniger aufgefasert, weniger unregelmäßig, oft auch gänzlich glatt und somit die Kolonieen rund. Rund und glattrandig sind zumeist die avirulenten und auch die stark schleimigen Spielarten.

So wie die Agarkolonieen der abgeschwächten Varietäten den unregelmäßigen aufgefaserten Rand verlieren, ebenso und gleichsam parallel damit verlieren sie auch ihre rauhe Oberfläche; diese erscheint bei den weniger veränderten Spielarten noch rauh, fein gekörnt, bei weiter gediehener Variierung bereits glatt, bei den schleimigen Varietäten aber feucht und glänzend.

Die Kulturen von nicht schleimigen Varietäten haben des öfteren eine weiße, aber nicht grünlich-graue Farbe, wohingegen die schleimigen Kolonieen durchsichtig und Schleimtropfen ähnlich erscheinen. Was die bei durchfallendem Lichte erkennbare Gestreiftheit anbetrifft, so ist diese bei den verschiedenen Varietäten recht mannigfach verändert. Es finden sich Varietäten, welche eine den normalen virulenten Milzbrandkolonieen ähnliche, d. h. eine ziemlich grobe Gestreiftheit zeigen; dann wieder solche, welche eine viel feinere Streifung haben; des weiteren gibt es Varietäten, die nur ein sehr feines, oft radiär gerichtetes, Seidenfäden ähnliches Gefüge und auch einen seidenähnlichen Glanz besitzen. Endlich andere lassen bei durchfallendem Lichte keine Struktur erkennen, d. h. sie sind homogen (s. Taf. II, Fig. 1—4). Die stark schleimigen Spielarten sind schon von Anfang an strukturlos, d. h. Schleimtropfen ähnlich; ich habe aber auch des öfteren beobachtet, daß anfangs mehr oder weniger gestrichelte Kolonieen später schleimig wurden und dabei ihre Struktur einbüßten.

Die Konsistenz der Kolonieen bei den verschiedenen Varietäten schwankt zwischen breiten Grenzen. Einzelne Varietäten sind schmierig, wie z. B. Staphylokokken, andere dagegen sind schleimig mit verschiedensten Abstufungen in der Festigkeit des Schleimes. Man findet schleimige Kolonieen, die man mit der Platinnadel bis zu 20—30 cm langen Fäden auszuziehen vermag.

Durch die Abänderung einer oder mehrerer der vom normalen Milzbrand geschilderten kulturellen Merkmale ergeben sich bei Verimpfungen der abgeschwächten Milzbrandkulturen auf Agar die verschiedenartigsten Kolonieen.

Von den normalen Kolonieen am abweichendsten zeigen sich die schleimigen Varietäten; doch sind diese auch unter sich sehr verschieden. Es gibt deren solche, die von Anfang an als helle durchsichtige Tropfen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erscheinen, und schon nach 24 Stunden mit den benachbarten Kolonieen zerschmelzend am Agar herabfließen (Taf. II, Fig. 4), so daß nach einigen Tagen die Agaroberfläche gleichsam rein und unbesät zu sein scheint. Die Schleimproduktion solcher Spielarten geht schnell vor sich, der gebildete Schleim aber ist dünnflüssig, kaum oder nur mehr in geringem Grade fadenziehend.

Im Gegensatz zu diesen gibt es muköse Varietäten, welche in den ersten Tagen den normalen Milzbrandkolonieen ziemlich ähnlich sind, also unregelmäßig gerändert, an der Oberfläche rauh, bei durchfallendem Lichte grob gestrichelt aussehen, die aber allmählich anfangen eine glasige Durchsichtigkeit, eine glänzende glatte Oberfläche und gleichzeitig eine zähschleimige Konsistenz anzunehmen; gleichzeitig damit verwischt sich die Strichelung der Kolonieen oder sie geht auch gänzlich verloren.

Es gibt endlich Abarten, die zwischen den sehr schnell und den langsam schleimig werdenden Varietäten eine Mittelstellung einnehmen, nämlich solche, die zwar in den ersten Tagen schon schleimig sind, jedoch dickflüssig bleiben und keine Neigung zum Konfluieren oder Abfließen bekunden.

Die Oberfläche der schleimigen Arten ist glatt, feucht glänzend, die Kolonieen sind dicker, prominenter und entweder rund (die weichen) oder doch weniger unregelmäßig konturiert (die zäheren), als es normale Milzbrandkolonieen zu sein pflegen.

Indem ich die aus den Impfstoffen auf Agar gewonnenen und anfangs für ein Gemenge verschiedener Arten gehaltenen Kolonieen einzeln weiterzüchtete, erhielt ich den verschiedenen Varietäten entsprechende Reinkulturen.

Was nun die mikroskopische Untersuchung der verschiedenen reingezüchteten Varietäten betrifft, so war diese nicht wenig überraschend, da sich dabei zwischen den einzelnen Kolonieentypen sehr bedeutende Unterschiede wahrnehmen ließen.

Vom normalen Milzbrandbacillus aus Agarkulturen am abweichendsten verhielten sich die mikroskopischen Bilder der schleimigen Arten, da hier das Bild von Kapselbacillen in allen erdenklichen Formen und Stadien vorhanden war. Bei der mikroskopischen Untersuchung bediente ich mich zumeist folgender Methode.

Von den Kolonieen wurde ein Teilchen mit destilliertem Wasser auf ein Deckgläschen ausgestrichen, getrocknet, dann mit Anilinwassergentianaviolett gefärbt, mit $^1/_2$—1-proz. Essigsäure schnell extrahiert und in Wasser untersucht. In neuerer Zeit habe ich mich zur Veranschaulichung der Kapseln auch der Tuschemethode bedient, die von Burri[1]) für andere Zwecke vorteilhaft verwendet und empfohlen wurde.

Das von mir befolgte Verfahren ist äußerst einfach und bewährt sich vorzüglich. Es besteht einfach darin, daß man auf ein Objektgläschen einen kleinen Tropfen Tusche[2]) gibt, diesen mit dem zu untersuchenden Material (sei es eine Kultur oder tierische Säfte) vermischt und dann mit einem Deckgläschen niederdrückt, um der Tuscheschicht zwischen den Gläschen eben die gehörige Dicke zu geben. In einem solchen Präparate sind die Bacillen, namentlich die bekapselten, hell

1) Das Tuscheverfahren. Jena 1909.

2) Ich gebrauchte teils „Liquid chinese ink" (Wolff et Son), teils Pelikantusche No. 541 (Grübler).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auf dunklem Grunde sehr gut sichtbar, da an ihrer Stelle die Tusche zwischen den Gläschen verdrängt ist. Ein großer Vorzug dieser Methode allen Färbeverfahren gegenüber besteht darin, daß die Kapselsubstanz gänzlich unverändert bleibt, wogegen sie durch Farbstoffe mehr oder weniger verändert wird, namentlich aber schrumpft. Ein solches Tuschepräparat kann uns auch über die Konsistenz der Kapseln Auskunft geben, indem ein auf das Deckglas mittels einer Nadel ausgeübter Druck die dünnschleimigen Kapseln leicht flottieren macht, die festen dagegen unberührt läßt.

Da dieses Tuscheverfahren die Kapselsubstanz unverändert läßt, so bringt sie auch die Maßverhältnisse der Kapseln am getreuesten zur Anschauung.

Aus Pasteurschen Impfstoffen auf Agar gezüchtete Varietäten mit diesem Verfahren untersuchend, fand ich den Durchmesser der Bacillenkörper (ohne Kapseln) 0,85—1,25 μ, während die bekapselten Stäbchen Durchmesser bis zu 10,0—18,75 μ erreichten. Es läßt sich hieraus unschwer berechnen, um wie vieles das Volumen der Kapseln größer sein kann, als das des Bacillenkörpers allein. Allerdings darf man auch nicht übersehen, daß sehr voluminöse Kapseln durch den Druck zwischen Deckglas und Objektträger abgeplattet und zufolgedessen unter dem Mikroskop breiter erscheinen können.

Seiner Einfachheit wegen und weil es die Kapselsubstanz unberührt läßt, gebührt diesem Verfahren beim Studium der Kapseln auch anderer Bakterien (Pneumobacillus, Pneumococcus, Pestbacillen etc.) wohl die erste Stelle. Sehr schmale Kapseln, die mit den verschiedenen Färbemethoden schwer oder gar nicht sichtbar gemacht werden können, lassen sich in Tusche mit Leichtigkeit darstellen (s. Taf. II).

Nachstehende Schilderungen beziehen sich auf mit Gentianaviolett gefärbte Kapseln, wofern nicht der Gebrauch der Tuschemethode eigens angegeben wird.

Die festeren, zähschleimigen Kolonieen bestehen aus Bacillenfäden und Ketten, obgleich letztere schon bedeutend kürzer sind, als es diejenigen der normalen Kolonieen zu sein pflegen. Der geringste Grad der Kapselbildung offenbart sich darin, daß die Bacillen und ihre Ketten sehr dunkel gefärbt und beträchtlich ($1^1/_2$—2mal) dicker erscheinen. An geeigneten Stellen läßt sich erkennen, daß diese Verdickung von der sehr dunkel gefärbten, den Bacillus umhüllenden Kapsel herstammt. Dies gibt sich auch noch dadurch zu erkennen, daß in solchen Kolonieen außer den Kapselbacillen auch immer mehr oder weniger Kapsellose vorhanden sind, und daß außer den stark dunkel gefärbten Kapseln hin und wieder auch solche mit blasser Färbung vorkommen, in deren Innern der normal große und normal aussehende Bacillenkörper gut wahrnehmbar ist.

Diese schmalen, dunkel gefärbten Kapseln konnte ich oft auch bei solchen Varietäten beobachten, deren Kulturen sonst keinen schleimigen Charakter zeigten, sondern den virulenten normalen Kolonieen ähnlich sahen.

Die weicheren, schleimigen Kolonieen bestehen aus kürzeren Ketten und einzelnen Stäbchen, die Bacillen sind von einer ihren Körper an Dicke 1—3-fach übertreffenden Kapsel umgeben. Gewöhnlich färben sich diese Kapseln heller als der Bacillenkörper, nur ihre äußere Zone ist oft dunkler als der übrige Teil. Bei der erwähnten Färbemethode erweist sich die Kapsel oft entweder in ihrer ganzen Dicke oder nur in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ihrer äußeren Schicht als inhomogen, schollig oder von schwammig-wabiger Struktur. Solche Strukturbilder halte ich jedoch für Kunstprodukte, weil ohne jegliche Behandlung die Kapselmasse stets ganz homogen erscheint (s. Taf. I, Fig. 1, 2). Desgleichen fasse ich als Kunstprodukte jene feinen Fäden auf, die benachbarte Kapselbacillen gelegentlich miteinander verbinden und die auch mit Geißeln verwechselt werden könnten.

Oft sieht man innerhalb dicker und hellgefärbter Kapseln von dünnen, aber dunkel gefärbten Scheiden umgebene Bacillen und Bacillenketten. Diese innere Scheide ist jedoch nichts anderes als die innerste, festere und dunkler gefärbte Partie der Kapsel. Die Kapsel ist sonach in ihren verschiedenen Schichten nicht immer von gleicher Konsistenz und Färbbarkeit.

Die Kapselbildung erstreckt sich bei den schleimigen Kolonieen nicht auf jeden einzelnen Bacillus oder jede Bacillenkette; es äußert sich im Gegenteil zumeist eine gewisse Individualität darin, daß einzelne Bacillen eines Fadens mächtige Kapseln besitzen, andere dagegen gar keine.

Es gibt Varietäten, hauptsächlich sind es die schleimigen, aber noch gestrichelten Kolonieen, in denen neben normalen, d. h. nackten Bacillenketten die verschiedensten Kapselformen in überraschender Mannigfaltigkeit vorkommen.

Das mikroskopische Bild der auf Agar schon nach 24 Stunden verflüssigten, ganz dünnschleimigen Varietäten ist ein wesentlich anderes; die überwiegende Mehrzahl der Bacillen ist einzeln, höchstens zu zweit, oder zu dritt zu sehen, sie bilden keine Ketten oder Fäden. Die Bacillen aus Kulturen des ersten Tages sind allseitig von einer 2—4-fachen oder noch breiteren Kapsel umgeben, die sich gleichmäßig hell färbt und weder nach außen, noch nach innen eine dunklere, d. h. festere Schicht aufweist. Mehrere Kapseln können zusammenfließen, oder es können mehrere, innerhalb einer Kapsel entstandene Bacillen sich voneinander lostrennen, aber doch innerhalb einer einheitlichen Schleimmasse verbleiben. So entstehen von einem Schleimhof umgebene Bacillengruppen, wahrhafte Zoogloeen (s. Taf. I, Fig. 6). Außerdem sind die Enden solcher Bacillen nicht mehr eckig abgeschnitten, sondern abgerundet.

Diese dünnflüssigen Spielarten sind es, die der Bakteriologe ohne orientierende Anhaltspunkte weder nach ihren Kulturen, noch nach ihrem mikroskopischen Bilde als Milzbrandbacillen ansprechen würde.

Meine Untersuchungen haben also klargelegt, daß im abgeschwächten Pasteurschen Impfstoffe eine ganze Reihe solcher Bacillenvarietäten vorkommt, die bereits auf gewöhnlichem Agar-Agar eine derartige Kapselbildung an den Tag legen, wie man es beim normalen vollvirulenten Milzbrandbacillus niemals beobachtet.

Die Kapselbildung, die man bei den im Tierkörper wachsenden Milzbrandbacillen schon längst kannte, äußert sich sonach bei gewissen abgeschwächten Varietäten schon auf Agar-Agar sehr auffällig.

Gleichzeitig habe ich festgestellt, daß die Kapselbildung bei manchen schleimigen Varietäten langsam, bei anderen wieder sehr schnell vor sich geht; des weiteren, daß die Kapsel bei einzelnen reichlich, bei anderen aber spärlich, ferner bei manchen zähe und langsam zerfließend, bei anderen dagegen saftreich und rasch zerfließend ist.

Hieraus folgt, daß das mikroskopische Bild solcher schleimigen Varietäten sich von Tag zu Tag ganz auffallend ändern kann. Oft fand

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ich Kolonieen, an deren Bacillen in den ersten Tagen eine Kapselbildung nicht bemerkbar war, sondern erst nach einigen Tagen. Dagegen erzeugen die Bacillen der dünnflüssigen Varietäten bereits in den ersten 1—2 Tagen die reichlichsten Kapseln, während später die kapsellosen Zellen immer mehr und mehr zahlreich wurden, indem die Kapseln von den Bacillenkörpern abflossen (s. Taf. I, Fig. 7). Aus den Pasteurschen Vaccinen ließen sich außer den schleimigen Varietäten auch noch andere Abarten züchten; diese kann man nach dem Aeußeren ihrer Agarkulturen einteilen in solche, die 1) gestrichelte, 2) homogene weiße Kolonieen bilden.

Die gestrichelten Kolonieen sind weniger ausgebreitet, als die des normalen Milzbrandes, sie sind aber dicker und weißlich, haben eine glattere Oberfläche und sind weniger konsistent.

Die Streifung der Agarkulturen bei durchfallendem Lichte ist übrigens stets ein Zeichen, daß die Bacillen sich in parallel gelagerten Fäden und in von solchen gebildeten Locken entwickeln; daher die Beobachtung, daß anfangs gestrichelte Kolonieen bei der Verflüssigung dieses Gefüge verlieren, da zufolge Erweichung der Scheidewände zwischen den Bacillen die Fäden in unregelmäßig gelagerte Glieder zerfallen.

Die aus den Vaccinen gezüchteten nicht schleimigen, auf Agar keine Kapseln bildenden und gestrichelten Varietäten können wieder wesentlich verschieden sein. Es gibt deren solche, die den normal virulenten Milzbrandbacillen ähnlich ihr Kapselbildungsvermögen beibehalten haben, und dieses im Körper empfänglicher Tiere oder in anderen geeigneten Medien (in Blutseris) auch zur Geltung bringen, ferner solche, welche dagegen dieses Vermögen gänzlich oder fast gänzlich eingebüßt haben.

Wie ich später zeigen werde, sind solche gestrichelten Varietäten teils noch virulent, teils avirulent.

Die Varietäten mit homogenen oder nur kaum merklich gestrichelten Kolonieen pflegen keine längeren Ketten zu bilden; ihre Kolonieen sind von glattem Rand und glatter Oberfläche, auch sind sie der Regel nach prominenter als normale Milzbrandkolonieen.

Infektionsversuche mit den abgeschwächten Varietäten.

Nachdem ich die im vorigen Abschnitte geschilderten Varietäten des Milzbrandbacillus erkannte, war nichts natürlicher, als die Frage, wie sich denn die einzelnen reingezüchteten Abarten im Organismus empfänglicher Tiere verhalten werden, d. h. wie es mit ihrer Virulenz stehen werde.

Von meinen zahlreichen, hauptsächlich an Hausmäusen, angestellten Infektionsversuchen verdienen vor allem jene Erwähnung, die mit auf Agar zusammen- und abfließenden Varietäten gemacht wurden, und die mich überzeugten, daß diese vom typischen Milzbrandbacillus vollends abweichenden und von mir anfangs als fremde Keime angesprochenen Bacillen dennoch Milzbrandkeime sind. Hierfür sprach nämlich das Eingehen der Tiere in $1^1/_2$—3 Tagen, sowie die Gegenwart von solchen Bakterienformen in Blut und Organen, die Milzbrandstäbchen entsprachen, obgleich aus solchen Tieren auf Agar wieder gänzlich atypische Kolonieen wuchsen, jenen der Ausgangskeime ähnlich.

Der Verlauf der Infektion, der mikroskopische und anatomische Befund war nach Verimpfung solcher, noch tötender Abarten im all-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gemeinen immer dem Milzbrand entsprechend. Nach Verimpfung stark schleimiger Kulturen fiel mir jedoch häufig ein sehr reichliches subkutanes Oedem auf, das nach Impfungen an der Schwanzwurzel oft auf den ganzen Stamm sich ausbreitete, den Tieren eine Walzenform verleihend.

Auch sah ich nach Verimpfung stark schleimiger Kulturen im Blute sehr reichliche, viel breitere Kapseln, als bei normalen Milzbrandstäbchen.

Einzelne Abarten dagegen, namentlich die auf Agar nicht schleimigen, homogenen weißen töteten im allgemeinen Mäuse nicht, und verursachten kein Oedem; falls sie aber ausnahmsweise töteten, konnten aus dem Blute der Tiere keine Kulturen erhalten werden. Nicht selten erfuhr ich, daß solch letztere Abarten, nachdem sie Mäuse getötet hatten, und aus der Impfstelle herausgezüchtet wurden, in diesen frischen Generationen sich avirulent erwiesen.

Auf diese Verhältnisse komme ich später zurück.

Bereits aus den im Jahre 1899—1900 mit verschiedenen, aus vierzehnerlei I. und ebensovielen II. Pasteurschen Vaccins isolierten Varietäten an etwa 90 Mäusen angestellten Versuchen habe ich die entschiedene Erfahrung gemacht, daß zwischen dem Kapselbildungsvermögen und der Virulenz der einzelnen Varietäten ein konsequenter Zusammenhang besteht, und zwar in dem Sinne, als die bereits auf Agar kapselbildenden Abarten im allgemeinen virulenter sind als jene, die auf Agar keine Kapseln erzeugen.

Bereits damals mußte ich diese Beobachtung durch jenen Schutz erklären, den die Kapsel dem Bacillus im lebenden Organismus gewährt; denn es gab sich bei der Prüfung der Impfstelle stets zu erkennen, daß die virulenteren auf Agar kapselbildenden Varietäten in der Impftasche der Tiere noch zur Zeit des Todes zahlreicher vorhanden, weniger entartet und zum Teil noch von Kapseln umgeben waren, wogegen die auf Agar Kapseln nicht, oder nur kaum bildenden, zugleich aber wenig oder nicht virulenten Abarten an der Impfstelle binnen gleicher Zeit ausgebreitete Entartung und Absterben aufwiesen, Kapseln aber auch hier nur recht spärlich, oder gar nicht erzeugten.

Ich beobachtete in keinem Falle, daß irgendein Typus der schleimigen Varietäten aus Pasteurschen Vaccins Mäuse nicht getötet hätte. Dagegen waren die auf Agar nicht schleimigen, sondern gestrichelten oder homogenen und mikroskopisch kapsellosen Varietäten für Mäuse bald tödlich, bald aber nicht, was allein schon Zeichen einer minderen Virulenz dieser Varietäten ist. Töteten aber auch solche Varietäten Mäuse, so konnte ich oft feststellen, daß ihr Blut und die inneren Organe nur sehr wenig oder gar keine lebenden Keime enthielten. So z. B. wuchsen in einem Falle (I_3 str.)[1]) aus dem Blute zwei, aus der Milz nur eine Kolonie, in einem anderen Falle (II_4 str.) aus Blut eine Kolonie, aus der Impfstelle dagegen gar keine. Zuweilen machte ich auch die Beobachtung, daß solche, für Mäuse virulente, aber auf Agar nicht muköse, sondern gestrichelte Varietäten bei wiederholter Züchtung und Prüfung bis zu einem gewissen Grade dennoch Kapseln bildeten.

Es ist übrigens begreiflich, daß die für Milzbrand äußerst empfäng-

1) I und II besagen, daß die betreffende Kultur aus dem I. und II. Pasteurschen Impfstoffe stammt; str. bedeutet, daß die Varietät auf Agar gestrichelte Kolonieen erzeugt (var. striata), mu bedeutet auf Agar schleimbildende Kolonieen (var. mucosa).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

liche und kleine Maus auch solch geringe Virulenzgrade empfindet, die den fast gänzlich avirulenten Abarten noch zukommen.

Die verschiedene Virulenz der verschiedenen Abarten äußerte sich bis zu einem gewissen Grade auch in der Dauer des Krankheitsverlaufes. Bei den verschiedensten mukösen und nicht mukösen (gestrichelten) Abarten betrug die Krankheitsdauer bei 65 Mäusen 1—4½ Tage. Gruppierte ich die Krankheitsdauer je nach den Varietäten, so ergab sich, daß die nicht mukösen gestrichelten, sowie die sehr dünnschleimigen Abarten langsamer töteten, als die zähschleimigen und die schleimigen und zugleich gestrichelten Varietäten.

Ich muß hier bemerken, daß es für die Krankheitsdauer ohne Bedeutung war, ob die genannten Varietäten aus dem I. oder II. Vaccin stammten. Laut der 65 Infektionsversuche töteten die aus dem I. Vaccin gezüchteten Abarten durchschnittlich in 2,5 Tagen, die aus dem II. gezüchteten in 2,6 Tagen, was wohl auffallend übereinstimmend zu nennen ist.

Variieren der abgeschwächten Stämme im Tierkörper.

Im Laufe der vorgeführten Tierversuche machte ich eine bemerkenswerte Beobachtung, behufs deren Aufklärung ich eigentlich die zahlreichen Mäuseimpfungen und bakteriologischen Leichenuntersuchungen vorgenommen hatte.

Es war mir bereits beim Studium der Kulturen von den verschiedenen Varietäten aufgefallen, daß gewisse, möglichst rein isolierte Varietäten (z. B. muköse, abfließende), als ich sie auf Agar fortzüchtete, in ihren späteren Generationen auch Kolonieen von abweichendem Charakter, namentlich nicht muköse, sondern festere, ja sogar auch weißliche und gestrichelte Kolonieen erzeugten. Dieses Verhalten wiederholte sich bei manchen Varietäten auch dann, wenn ich bei der Fortzüchtung peinlichst darauf achtete, daß die Abimpfung stets aus isolierten, sowohl mit der Lupe, wie mikroskopisch betrachtet einheitlich, d. h. aus einzelnen Keimen entstandenen Kolonieen geschah.

Da ich aber wußte, daß die schleimige Substanz der Kapsel imstande ist, fremde Keime an sich zu kleben, so mußte ich daran denken, daß es sich bei der eben erwähnten Erscheinung um ein Zusammenkleben von Bacillen verschiedener Varietäten handeln könnte, deren Trennung mir auch durch ein gründliches Zerstreichen auf der Agarfläche nicht gelang.

Zur Klärung dieser Frage schien mir das Tierexperiment geeigneter. Dabei machte ich abermals die Beobachtung, daß nach Verimpfung möglichst sorgfältig isolierter und einheitlich erscheinender Varietäten aus den verschiedenen Geweben der verwendeten Mäuse häufig Kulturen verschiedenen Charakters wuchsen.

Noch auffallender war es, daß nach Verimpfung gewisser, für Mäuse tödlicher Varietäten, aus dem Blute solcher Tiere der ursprünglichen Kultur ganz ähnliche, aus der Impfstelle dagegen solche nicht muköse Kulturen wuchsen, die Mäuse gar nicht töteten.

Von meinen zahlreichen diesbezüglichen Versuchen mögen hier einige angeführt sein.

1) Ein Stamm (II_4 mu), der bereits eine Maus passierte und aus deren Blut gezüchtet wurde, war ein wenig mukös, konfluierend und von seidenartigem Glanz. Die mit der 5 Tage alten Kultur geimpfte Maus ging in 1½ Tagen ein; aus dem Blute wuchsen ab- und zusammenfließende Kolonieen; aus dem Oedem der Impfgegend hingegen wuchsen nur einige nicht muköse, sondern gestrichelte Milzbrandkolonieen. Die Blutkultur tötete abermals eine geimpfte Maus, und aus dem Blute der letzteren

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wuchsen nur muköse Kolonieen; aus dem Oedem der Impfstelle aber wuchsen außer mukösen Kolonieen auch nicht-muköse, gestrichelte. Die gestrichelten Kolonieen aus dem Oedem der Impfstelle der ersten Maus waren für Mäuse nicht tödlich.

2) Der Stamm I_1 mu (8. Gener.) war dem unter 1) geschilderten ganz ähnlich und tötete die Maus in $1^1/_2$ Tagen. Aus dem Blut wuchsen muköse, aus dem Safte der Impfstelle dagegen nur gestrichelte, nicht-muköse Kolonieen. Die Blutkultur tötete Mäuse, die Kultur der Impfstelle dagegen nicht.

3) Die Varietät II_3 mu passierte bereits die Maus und wurde aus deren Blut gezüchtet; sie war ausgesprochen schleimig, ein wenig abfließend, tötete Mäuse in $3^1/_2$ Tagen. Aus dem Blute gediehen entschieden schleimige, aus dem Oedem der Impfstelle aber gestrichelte, nicht-muköse Kolonieen; erstere töteten Mäuse, und die Kulturen aus Blut und aus Impfstelle zeigten abermals die geschilderten Unterschiede. Die Kultur der Impfstelle tötete Mäuse nicht mehr.

4) Kultur I_3 mu war schleimig, ab- und zusammenfließend, schien auch nach 10 Tagen ganz einheitlich, tötete Mäuse in 2 Tagen. Aus dem Blute wuchsen ganz ähnliche muköse Kolonieen; aus der Impftasche wuchsen schleimige, jedoch gestrichelte Kolonieen; aus dem von der Impfstelle etwas entfernten Oedem wuchs nur eine muköse Kolonie, die übrigen waren nicht schleimige, gestrichelte Kolonieen. Letztere Kulturen aus Impftasche und Oedem töteten keine Mäuse mehr.

5) Stamm I_5 mu war sehr dünnschleimig, abfließend, tötete Mäuse in $3^1/_2$ Tagen. Aus Blut gingen schleimige, konfluierende, aus dem Impfödem dagegen gestrichelte, nicht zerfließende Kolonieen auf. Beiderlei Kulturen töteten zwar Mäuse, doch konnte ich aus Blut und Impfstelle der mit letzterer Kultur geimpften Maus kulturell keine Milzbrandbacillen nachweisen.

6) Stamm I_1 mu passierte bereits die Maus, schien noch am 10. Tage einheitlich, ein wenig mukös, tötete Mäuse in 2 Tagen; aus Blut wuchsen ab- und zusammenfließende Kolonieen, aus der Impftasche und aus dem Oedem der Umgebung wuchsen zum Teil ähnlche (d. h. muköse), zum Teil nicht muköse, ein wenig gestrichelte Kolonieen. Die dritte Generation der schleimigen Kolonieen, von der Impfstelle, tötete Mäuse in $1^1/_2$ Tagen; aus dem Blute wuchsen ausschließlich zusammen- und abfließende Kolonieen, ebenso von der Impfstelle; dagegen blieben die mit den gestrichelten Kolonieen der Impfstelle der ersten Maus infizierten Mäuse am Leben.

7) Der mit II_5 mu 5. G. [1]) bezeichnete Stamm von ausgesprochen schleimigem Charakter tötete eine Maus in $3^1/_2$ Tagen; das Blut der Maus gab zusammen- und abfließende, der Impfsaft außer einigen solchen auch einige gestrichelte Kolonieen. Eine mit den schleimigen Kolonieen des Blutes infizierte Maus starb nach $4^1/_2$ Tagen; im Blut waren mikroskopisch keine Bacillen zu finden; auf Agar wuchsen aus Blut und Impfsaft sowohl schleimige wie gestrichelte Kolonieen. Die Mäuse hingegen, die mit den gestrichelten Kolonieen, gewonnen aus dem Impfsaft der ersten und zweiten Maus, infiziert wurden, blieben am Leben.

8) Stamm I_7 mu, dessen Kultur mehrfach aus vereinzelten Kolonieen fortgezüchtet wurde, und daher als rein betrachtet werden konnte, und der lediglich aus zusammen- und abfließenden schleimigen Kolonieen bestand, tötete eine Maus nach $1^1/_2$ Tagen. Aus dem Blute der Maus wuchsen zusammen- und abfließende Kolonieen, ebenso auch von der Impfstelle. Doch war die Reinheit dieser Kultur zweifelhaft, weil auf dem zusammen- und abfließenden Grunde sich einige weiße Punkte zeigten (eine andere Varietät?!). Eine Maus, infiziert mit dem Oedemsaft, ging in $1^1/_2$ Tagen ein, aus ihrem Blute wuchsen viele zusammen- und abfließende Kolonieen, aus der Impfstelle dagegen außer solchen auch feingestrichelte mit glatter und glänzender Oberfläche. — Eine Maus mit letzteren Kolonieen geimpft, blieb am Leben.

Diese, sowie auch andere ähnliche Versuche haben somit ergeben, daß gewisse abgeschwächte, Mäuse aber noch unbedingt tötende Varietäten, einerseits aus dem Blute der Leichen, andererseits aus der Impfstelle gezüchtet, oft Kolonieen von verschiedenem Typus lieferten, und zwar konsequent in dem Sinne, daß die Kultur aus Blut dem zur Infektion verwendeten schleimigen Typus entsprach, während von der Impfstelle weniger oder gar nicht schleimige, sondern gestrichelte und Mäuse überhaupt nicht mehr tötende Kolonieen wuchsen.

1) 5. G. = fünfte Generation aus Pasteurschem Impfstoff.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Daraus mußte ich folgern, daß daß Variieren auch im Körper der infizierten Maus nicht innehält, sondern daß daselbst aus noch tötenden Varietäten neuere und namentlich solche entstehen können, die gänzlich avirulent sind.

Die Haltbarkeit der Annahme, als wären schon die zur Impfung verwendeten Kulturen gemischt gewesen, indem sie für Mäuse virulente und nichtvirulente Varietäten enthielten, scheint mir ausgeschlossen, und zwar aus folgenden Gründen:

Die Voraussetzung, daß in diesen Fällen die Infektion mit Mischkulturen (von virulenten und avirulenten Abarten) geschehen sei, würde es zwar verständlich machen, daß im Blute stets nur die virulente schleimige Varietät erschienen ist, die gestrichelte avirulente jedoch nicht, da letztere bereits an der Impfstelle leichter zugrunde geht, in die Gewebe einzudringen, im Blute zu leben und sich zu vermehren nicht imstande ist. Aber eben deshalb wäre zu erwarten gewesen, daß auch an der Impfstelle die virulente und daher resistentere schleimige Varietät gleichfalls vorhanden sei, und zwar entweder ausschließlich oder doch in der Ueberzahl gegenüber den avirulenten Keimen. In einigen Fällen erhielt ich zwar auch aus dem Impfsafte neben gestrichelten avirulenten Kolonieen auch schleimige, wie aus dem Blute, oft aber wuchsen aus der Impfstelle nur avirulente und nicht-muköse Kolonieen. Auch geschah es, daß von der Impfstelle und aus dem entfernteren Oedem verschiedene Kolonieen wuchsen, und zwar sämtlich abweichend vom Charakter der Blutkultur (s. Fall 4).

Es ist nicht anzunehmen, daß hier vom Zusammenkleben zweier oder mehrerer Abarten die Rede sein könnte. Wenn die schleimige Substanz der Kapseln fähig wäre, mehrere Abarten des Milzbrandbacillus so konsequent zu verkleben, dann müßte sich diese Fähigkeit auch anderen Bakterienarten gegenüber offenbaren, namentlich dann, wenn an der Infektionsstelle außer Milzbrandstäbchen auch fremde Keime anwesend sind. Ich habe aber niemals beobachtet, daß in solchen Fällen die schleimigen Milzbrandvarietäten von jenen fremden Keimen am Züchtungswege nicht leicht zu trennen gewesen wären.

Bemerken muß ich noch, daß ich bei jenen Versuchen oft peinlich darauf achtete, daß die zur Verimpfung verwendete Kultur absolut rein, d. h. nur eine einzige Varietät enthaltend sei. Zu diesem Behufe habe ich die Kulturen längere Zeit hindurch beobachtet, sie wiederholt auf Agar-Agar ausgesät, wobei ich stets von unbedingt rein scheinenden einzelnen Kolonieen ausging, und doch offenbarte sich nach der Verimpfung solch reiner Varietäten an Mäuse die geschilderte Verschiedenheit der aus Blut und Impfstelle gewonnenen Kulturen.

Würde es sich übrigens bei diesen Beobachtungen um Gemische von Varietäten und nicht um Verringerung oder Verlust der Virulenz handeln, so wäre es doch sonderbar, daß nach Verimpfung der verschiedensten Stämme bei zahlreichen Versuchen von der Impfstelle stets nur avirulente oder kaum virulente Kulturen wuchsen, wo doch avirulente Milzbrandbacillen im tierischen Körper leichter und rascher absterben als virulente.

Es können sonach abgeschwächte Varietäten des Milzbrandbacillus im Organismus empfänglicher Tiere eine weitere Abänderung, namentlich Abschwächung erfahren. Das Variieren, welches bei der künstlichen Abschwächung durch eine

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erhöhte Züchtungstemperatur nach Pasteur zur Entstehung einer Reihe von Abarten führt, kann — wenigstens bei gewissen Abarten — nach meinen Beobachtungen im tierischen Körper sich fortsetzen.

Einem stetigen Variieren muß ich ferner die unzählige Male beobachtete Erscheinung zuschreiben, daß es besonders bei gewissen Abarten ein fruchtloses Bestreben war, dieselben eine längere Reihe von Generationen hindurch mit ihrem ursprünglichen Charakter fortzuzüchten. Wurde eine nach Möglichkeit rein isolierte Abart (z. B. eine muköse) von Zeit zu Zeit von neuem auf Agar ausgebreitet, so entwickelten sich fast regelmäßig außer dem ursprünglichen Abartentypus eine oder mehrere abweichende Typen; und wurden mit den nun so isolierten mukösen Kolonieen das Verfahren wiederholt, so erschienen abermals verschiedene Typen.

Es sind jedoch nicht alle Abarten einer weiteren Abänderung in gleichem Maße fähig. Es kam vor, daß manche Varietäten ihren Charakter eine lange Reihe von Fortzüchtungen hindurch bewahrten, oder auch dann unverändert bleiben, nachdem sie den Tierkörper passierten und aus dessen Blut oder Impfsäften herausgezüchtet wurden.

Beachtenswert ist, daß ich ein Variieren zur völligen Avirulenz ausschließlich an den Bacillen der Impfstelle und seiner Umgebung feststellen konnte, während die Kulturen aus dem Blute makro- und mikroskopisch sowie nach ihrer Virulenz dem verimpften Stamme entsprachen. Woran dies liegen mag, wäre schwer zu behaupten; doch dürfte die Annahme zutreffen, daß an der Impfstelle, wo die Keime längere Zeit ($1-4^1/_2$ Tagen) verweilen, die Bedingungen eines Variierens eher gegeben sind, als im Blute, wo sich die Bacillen erst in den letzten Stunden zahlreicher vorfinden und vermehren.

Mäuse überhaupt noch tötende Varietäten ergaben aus dem Blute stets wieder tötende Kulturen auch in jenen Fällen, wo die Kulturen der Impfstelle sich avirulent erwiesen.

Bei Fortimpfung des Herzblutes auf frische Mäuse konnte ich auch in sehr langen Reihen eine Virulenzabnahme nicht feststellen, wie es folgender Versuch zeigt.

Ein reiner, zusammen- und abfließender Stamm (I_7 mu) wurde aus dem Blute bis zur 80. Maus fortgeimpft. Aus dem Blute der 80. Maus gedieh eine der Ausgangskultur völlig entsprechende Kultur.

Die Virulenzabnahme der von der Impfstelle gewonnenen Kulturen legte mir den Gedanken nahe, daß sich auch bei der direkten Fortimpfung des Virus von der Impfstelle her eine Virulenzabnahme bemerkbar machen müsse. Diese Voraussetzung wurde durch folgende Versuche bestätigt.

Eine Maus wurde subkutan geimpft mit jenem Stamm, der bei der Blutpassage bis zur 80. Maus sich unverändert und virulent erwies. Nun wurde mit einem Stückchen der infizierten Subcutis nach dem Tode eine frische Maus subkutan geimpft usf. Die 9. Maus blieb am Leben. In einer zweiten Versuchsreihe mit demselben Stamm blieb die 13. Maus am Leben. In zwei anderen Versuchsreihen mit einer anderen, gleichfalls mukösen Varietät blieb beide Male bereits die 3. Maus lebend.

Ich muß bemerken, daß bei diesen Versuchen die zur Impfung der letzten, d. h. der am Leben gebliebenen Versuchstiere verwendeten Gewebsstückchen sowohl mikroskopisch wie auch kulturell nachgewiesene lebende Milzbrandkeime enthielten; daß ferner auch bei diesen Versuchstieren die Kulturen aus Blut regelmäßig den Charakter der Ausgangs-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kultur bewahrten, während aus dem Impfsaft und Oedem zunächst ein Gemisch von (2—3) Varietäten wuchs.

Die gelegentlich dieser Versuche aus dem Blute gezüchteten tödlichen und von der Impfstelle gewonnenen nicht tödlichen Agarkulturen waren stets auch mikroskopisch sehr verschieden, die ersteren bildeten nämlich Kapseln, die letzteren aber nicht.

Vergleichende Infektionsversuche mit verschiedenen Varietäten.

Die Ergebnisse meiner angeführten Versuche hatten gezeigt, daß jene Varietäten des abgeschwächten Milzbrandbacillus, die auf Agar Kapseln gar nicht oder nur sehr spärlich erzeugen, auch für die sehr empfängliche Maus nicht mehr tödlich sind, oder töten sie auch ausnahmsweise diese Tiere, so vermehren sie sich in Blut und Geweben derselben nicht. Ferner hat sich gezeigt, daß die auf Agar rasch zerfließende, d. h. sehr dünnflüssige Kapseln bildenden Varietäten Mäuse langsamer töteten als Varietäten, deren Kapseln sich langsamer entwickeln, aber fester und dauerhafter sind.

Ich mußte aus diesen Erfahrungen folgern, daß die Masse der erzeugten Kapseln, sowie der zeitliche Verlauf der Kapselbildung bei den verschiedenen Varietäten im tierischen Organismus ebenso verschieden sein müsse, wie in Kulturen, was auf das Schicksal der mit den tierischen Säften und Zellen im Kampfe stehenden Bacillen nicht ohne Belang sein kann.

Zwecks Erforschung dieser Verhältnisse war es nötig, mit gleichen Dosen gleich alter Kulturen von verschiedenen Varietäten Tiere zu impfen und von Zeit zu Zeit das Verhalten der Stäbchen an der Impfstelle zu beobachten.

Nachstehende Tabelle I veranschaulicht einen solchen Versuch an Mäusen.

Von den sechserlei Varietäten wurden die vier ersten aus einem Pasteurschen I., die zwei letzten aus dem entsprechenden II. Impfstoffe gezüchtet. Die subkutane Impfung geschah mit je einer Oese der 24-stündigen Agarkulturen.

Aus dieser Tabelle und den entsprechenden Mikrophotogrammen (s. Tafel I) ergibt sich folgendes.

Von den 6 Varietäten war die erste für die Maus nicht tödlich, wohl aber die übrigen fünf. Die Virulenz der 2. Varietät war indessen recht gering, was nicht allein aus dem verzögerten Krankheitsverlauf (78 Stunden), sondern auch daraus ersichtlich ist, daß die Bacillen an der Impfstelle frühzeitig massenhaft abstarben (schwache Färbung, Deformation), nicht minder auch daraus, daß aus dem Blute auch kulturell keine Milzbrandstäbchen nachzuweisen waren. Letzteres erfuhr ich bereits auch kurz vorher bei einer mit demselben Stamme getöteten Maus.

Das Verhalten der 4 übrigen Varietäten, die Mäuse binnen 33 bis 65 Stunden getötet hatten, war ein wesentlich verschiedenes sowohl hinsichtlich der größeren Anzahl, wie der Bekapselung der Bacillen in der Impftasche. Nichtsdestoweniger offenbarten sich auch zwischen diesen 4 virulenten Varietäten an der Impfstelle gewisse Unterschiede.

Vergleicht man die in den entsprechenden Kolonnen gesperrt gedruckten Befunde über die Anzahl der Bacillen im allgemeinen und dann

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Verhalten von 6 verschiedenen Varietäten bei Mäusen.

Makro- und mikroskopisches Verhalten der Agarkulturen der Varietäten.					
1	2	3	4	5	6
Weißliche, etwas gestrichelte Kolonieen, nicht glänzend, nicht schleimig. 2-tägige Agarkultur mikroskopisch: isolierte Bacillen und kurze Ketten, keine Spur von Kapseln	Weißliche, homogene Kolonieen, nicht schleimig. 2-tägige Agarkultur mikroskopisch: zumeist einzelne Bacillen, weniger Ketten als bei No. 1. Die Bacillen zumeist abnorm lang. Kapseln nicht zu sehen	Glatte, glänzende feuchte Kolonieen mit seidenartigem Schimmer. 1-tägige Agarkultur mikroskopisch: einzelne Bacillen und kurze Ketten, sämtlich mit blassen Kapseln von der Dicke etwa eines halben Bacillus. 3-tägige Kultur: noch sämtliche bekapselt, die meisten Kapseln dunkel gefärbt	Schleimig-glasige Kultur, bereits am 2. Tage hinabfließend. Mikroskopisch (1. Tag): zumeist nur einzelne Stäbchen, sämtlich mit blaßgefärbten etwa 2-fachen (= 2 Bacillen dick) Kapseln, auch schöne Zooglöen. Am 2. Tage: ein ähnliches Bild, wie gestern; die meisten Bacillen abnorm lang. Am 3. Tage: die meisten Bacillen bereits kapsellos; zahlreiche abnorm lange Bacillen	Gestrichelte, aber feuchte, am 2. Tage konfluierende Kolonieen. Mikroskopisch am 1. Tag: vielgliedrige Ketten, sämtlich mit blaßgefärbten $^1/_2$—1-fachen Kapseln. Am 2. Tage: so wie gestern, jedoch breitere Kapseln. Am 3. Tage: Ketten mit blassen Kapseln, Bacillen zumeist bedeutend länger, als normal; aber auch kapsellose, blasse deformierte Bac. und Ketten	Anfangs gestrichelte aber feuchte, am 2. Tag bereits zusammen- und hinabfließende Kolonieen. Mikrosk. am 1. Tage: einzelne Bacillen und kurze Ketten zumeist mit $^1/_2$—1-fachen, blaßgefärbten Kapseln. Am 2. Tage: zumeist schmale, aber dunkelgefärbte, weniger blasse Kapseln, sowie unbekapselte Bacillen. Am 3. Tage: dem gestrigen Bilde ähnlich
Alter und Generationsnummer der Versuchskulturen.					
2 Tage (1 Tag bei 37°, ein Tag bei Zimmertemperatur im Sommer)	So wie bei 1	1 Tag. 4. Generation	1 Tag. 5. Generation	1 Tag. 5. Generation	1 Tag. 6. Generation
Mikroskopisches Bild des der Impfstelle zeitweise entnommenen Saftes.					
3 Std.: Viel Bacillen, ähnlich denen aus der Kultur, keine Ketten, keine Kapseln. Ziemlich viel Zellen, deren einzelne von Bacillen erfüllt	3 Std.: Viel Bacillen, ähnlich denen der Kultur. Hie und da ein Leukocyt	3 Std.: Impfstelle etwas geschwollen; sehr zahlreiche Bacillen mit breiten Kapseln, deren äußere Schicht dunkler gefärbt, stellenweise dunkler konturiert. Nicht wenige Bacillenschatten (ungefärbt) innerhalb von Kapseln. Wenig kapsellose Bacillen. — Ziemlich viel Leukocyten, in manchen derselben Bacill., letztere sind kapsellos, oder bloß von einem hellen Hof umgeben	3 Std.: Sehr viel Bacillen mit breiten Kapseln, aber im allgemeinen sind letztere weniger breit, als in der Kultur. Die Kapseln sind in Auflösung begriffen. Wenig kapsellose Bacillen. — Wenig Leukocyten, zum Teil mit Bacillen, die kapsellos sind	4 Std.: Sehr viel, zumeist abnorm lange Bacillen mit abgerundeten Enden, zumeist ohne Kapseln, aber nicht wenige reichliche, in den äußeren Schichten dunkelgefärbte Kapseln. — Wenig Leukocyten, zum Teil mit Bacillen	4 Std.: Viel Bacillen, zumeist mit mäßigen oder breiten, nach außen sich dunkel färbenden Kapseln. Nicht wenig kapsellose Bacillen und nach außen zu verschwommene (sich lösende) Kapseln. Wenig Leukocyten zum Teil mit Bacill., diese sind kapsellos und liegen oft in Vakuolen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mikroskopisches Bild des der Impfstelle zeitweise entnommenen Saftes.

1	2	3	4	5	6
9 Std.: An der Impfstelle kein Oedem. — Viel Bacillen, aber nach Form und Färbung nicht mehr gleichmäßig, viel blasse oder ungefärbte (abgestorbene), sowie stark verlängerte, gekrümmte und gequollene. — Viel Leukocyten, zum größten Teil bacillenfrei	9 Std.: Impfstelle saftreich. Nicht viel Bacillen, sämtlich blasser gefärbt, darunter auch gequollene. Nicht viel Zellen, zum Teil mit Bacillen	8 Std.: An der Impfstelle dünner Saft. Sehr viel Bacillen im ganzen noch so, wie zuvor, jedoch viel abnorm lange Bacillen	10 Std.: Ziemlich viel Bacillen, zumeist längere, fadenförmige, gekrümmte; ihre Mehrzahl ist kapsellos oder besitzt nur dünne Kapseln, die Minderzahl hat breite Kapseln; der Umriß der Kapseln ist oft unregelmäßig, wellig, die Kapseln nach außen dunkler gefärbt. — Wenig Leukocyten, teilweise mit Bacillen	10 Std.: Viel Bacillen (darunter abnorm lange und gekrümmte) scheinbar weniger, als zuvor, zumeist mit schmalen oder breiten Kapseln; wenig ungefärbte (tote) Bacillen. Wenig Leukocyten, zum Teil mit Bacillen	9 Std.: Viel Bacillen zumeist mit Kapseln (so wie zuvor); die Minderzahl kapsellos oder mit dünnen Kapseln. Sehr wenig Zellen.
21 Std.: Wenig Bacillen, darunter zahlreiche blaß oder kaum gefärbte. Wenig Leukocyten mit blassen oder brockigen, wohl auch mit gut gefärbten Bacillen	21 Std.: Sehr wenig Bacillen, gefärbt oder sehr blaß, zum Teil verquollen und deformiert	21 Std.: An der Impfstelle Oedem. Bedeutend weniger Bacillen als zuvor (vielleicht des reichlicheren Saftes wegen), darunter viele abnorm lange, gekrümmte. Sehr breite, geschichtete, aber auch dünnere Kapseln. Wenig unbekapselte Bacillen. Innerhalb nicht weniger Kapseln körnige, oder wie angenagte ungefärbte Bacillen. Nicht viel Leukocyten, zum Teil mit Bacillen	21 Std.: Viel weniger Bacillen, als nach 3 Std., zumeist abnorm lang und kapsellos; wenig breite Kapseln, auch diese sind verschwommen (in Auflösung begriffen). Die meisten Bacillen sind unbekapselt, oder haben nur schmale, zerfetzte Kapseln. — Leukocyten kaum zu sehen	20 Std.: Zahlreiche Bacillen, zumeist bekapselt, die Kapseln sind mäßig oder breit; auch zooglöenartige Bacillengruppen	21 Std.: Ausgebreitetes Oedem an der Impfstelle. Zahlreiche Bacillen, zumeist ohne oder mit nur dünnen Kapseln, nur ein kleinerer Teil besitzt breite, zuweilen geschichtete Kapseln. Mehr abnorm lange, gequollene, verkrümmte Bacillen, als vordem. Nicht wenige leer erscheinende Kapseln (ungefärbte Bacillenleiber). Nicht viel Zellen, zumeist mit Bacillen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mikroskopisches Bild des der Impfstelle zeitweise entnommenen Saftes.

1	2	3	4	5	6
35 Std.: Hie und da vereinzelte Bacillen, zumeist gequollene, kommaförmige, gefärbt oder blaß. — Keine Zellen zu sehen	35 Std.: Ziemlich viel Bacillen, zumeist gequollene, abnorm lange, spirillen- und hantelförmige, viele blaß gefärbt. — Leukocyten spielen bei der Abtötung der Bac. keine Rolle	26 Std.: Ausgedehntes Oedem um die Impfstelle. Ziemlich viel Bacillen, fast sämtlich bekapselt; die meisten Kapseln sind sehr breit (breiter als nach der 3. und 8. Std.) und scheinen sich nach außen aufzulösen, teilweise sind sie wellig konturiert, oft geschichtet. Viele Kapseln sehen leer aus (ungefärbte Bacillenkörper). Wenig Zellen, spielen als abtöt. Phagocyten keine Rolle	28 Std.: Um die Impfstelle reichliches Oedem und Rötung. Nicht wenig Bacillen, zumeist lange, gekrümmte, fast sämtlich unbekapselt, nur hie und da eine breite Kapsel (jedoch schmälere, als vordem) zumeist um kurze Stäbchen. Nicht wenige verdünnte, blasse oder schollige Bacillen. — Wenig Zellen, zum Teil mit Bacillen	26 Std.: Um die Impfstelle geringes Oedem und Rötung. Viel Bacillen, fast sämtlich bekapselt, auch abnorm lange. Die Kapseln sind sehr breit, blaß, nach außen zu dunkler gefärbt und zumeist zerklüftet. Wenig Zellen, leere	27 Std.: Um die Impfstelle beträchtliches Oedem. Ziemlich viel Bacillen, zumeist unbekapselt, wenige mit sehr breiten Kapseln. Viel gequollene, verkrümmte und sonst deformierte Bacillen. Viel Leukocyten, in den meisten Bacillen
44 Std.: Noch weniger Bacillen, als zuvor. Wenig Zellen	44 Std.: Sehr wenig Bacillen, zumeist gequollen, komma- oder hantelförmig, zum Teil blaß gefärbt	33 Std.: Viel weniger Bacillen als zuvor, zumeist bekapselt, aber die Kapseln nur selten breit und stets blaß. Nicht wenig kapsellose, kurze oder fadenförmig lange Bacillen. Wenig Zellen, sie spielen bei der Bacillen-Abtötung keine Rolle.	33 Std.: Ziemlich viel Bacillen, zumeist lange, verkrümmte und kapsellose, aber auch noch so breit bekapselte, wie in den ersten Stunden. Um die abnorm langen Bacillen nur selten und nur dünne Kapseln	34 Std.: Viel Bacillen, auch kurze und lange Ketten zumeist mit Kapseln, die stellenweise sehr breit sind; nicht viel kapsellose, blasse Bacillen und Kapseln mit ungefärbten Bacillenleibern. Wenig Zellen, zumeist leer	33 Std.: Viel Bacillen, zumeist mit schmalen, aber scharf konturierten Kapseln, aber auch viel unbekapselte. Viele leer erscheinende blasse Kapseln; auch lange, verkrümmte Bacillen. Nicht viel Zellen, zum Teil mit Bacillen
49 Std.: An der Impfstelle ein kleiner Knoten, kein Oedem. Sehr wenig Bacillen u. zwar solche, wie nach 35 Std. Ziemlich viel Leukocyten, einzelne mit Bacillen	49 Std.: Geringes Oedem an der Impfstelle. Wenig Bacillen zuweilen in kleinen Gruppen, solche, wie nach 44 Std. Zellen nicht zu sehen	45 Std.: Wenig Bacillen fast so, wie nach 33 Std., aber keine breiten Kapseln mehr. Wenig leere Kapseln (ungefärbte Bacillenleiter).	45 Std.: Weniger Bacillen, als zuvor, zumeist verlängerte und kapsellose. Breite Kapseln überhaupt keine mehr, nur wenig schmale, verschwommene, oder den Bacillenenden aufsitzende kappenförmige Kapselreste. Viel blasse und körnige Bacillen. Wenig Zellen, spielen bei der Abtötung der Bacillen keine Rolle		

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Mikroskopisches Bild des der Impfstelle zeitweise entnommenen Saftes.

1	2	3	4	5	6
73 Std.: Impfstelle etwas erhaben, aber Impftasche trocken. — Einige gefärbte oder blasse Bacillen. Ziemlich viel Zellen.	73 Std.: Impfstelle saftreicher, ödematös. Sehr wenig Bacillen, sämtlich blaß und deformiert. (Ein fremder kleiner Bacillus ziemlich zahlreich)	49 Std.: Oedem an der Impfstelle geringer, als gestern. Sehr wenig Bacillen, zumeist kapsellos, nur wenig breite, blasse, nach außen zerfallende Kapseln	59 Std.: Ziemlich viel Bacillen, kurze, lange, auch verkümmerte; hie und da noch breite Kapseln. Wenig Zellen, zumeist ohne Bacillen		
Maus blieb am Leben	Maus ging ein nach 78 Stund. Schwaches Oedem um die Impfstelle. Einige verlängerte, plumpe oder gekrümmte Bacillenformen pro Gesichtsfeld, außerdem bedeutend mehr Bacillen einer fremden Art. — Aus dem Impfsaft wuchsen auf Agar viel teils weißliche homogene, teils gestrichelte Milzbrandkolonieen u. noch mehr fremde Kolonieen. Im Blut Bacillen weder mikroskopisch, noch kulturell nachweisbar	Maus ging ein nach 54 Std. Um die Impfstelle mäßiges Oedem, im Safte sehr wenig Bacillen, fast sämtlich kapsellos, dünn, nur hie und da noch schmälere oder breite Kapseln. Mikroskopisch in Blut und Milz keine Stäbchen. Auf Agar wuchs aus Blut eine fremde Kolonie, aus Milz 5 Milzbrandkolonieen von schleimigem, hinabfließendem Charakter	Maus ging ein nach etwa 65 Stunden. An der Impfstelle und Umgebung weichliches, sülziges Oedem, darin ziemlich zahlreiche zumeist unbekapselte Bacillen, nur wenige mit dünnen Kapseln oder Ueberresten solcher an den Enden. — Wenig Zellen, zum Teil mit Bacillen. — Im Blut 1—2 Milzbrandbacillen pro Gesichtsfeld mit ca. 1-fachen Kapseln. Auf Agar wuchsen: aus Blut zusammen- und abfließende Milzbrandkolonieen, aus dem Impfsafte ähnliche Kolonieen	Maus starb nach etwa 40 Stunden. Um die Impfstelle wenig ausgebreitetes Oedem, darin wenig Bacillen, solche, wie nach 34 Std. — Im Blut nicht viel Bacillen und 4—6-gliedrige Ketten, mit schmalen oder breiteren (bis zu 1-fachen) Kapseln. Auf Agar wuchsen: aus Blut zahlreiche gestrichelte, aber feuchte konfluierende Kolonieen, von der Impfstelle ähnliche Kolonieen	Maus starb nach 33 Std. 15 Std. später untersucht. Im Impfsaft nicht viel Bacillen, zumeist kapsellos, darunter viele verlängert und verunstaltet; die Minderzahl besitzt dünne Kapseln. — Im Blut 2—3 Stäbchen pro Gesichtsfeld. Auf Agar wuchsen: aus Blut zahlreiche solche Kolonieen, wie die zur Impfung verwandten; aus der Impftasche wuchsen außer solchen auch einige gestrichelte, rauhe (dem normalen Milzbrand ähnliche) Kolonieen

Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.
Verhalten der 6 Varietäten bei Meerschweinchen.

1	2	3	4	5	6
Nach 5 Stunden: Viel Bac., fast sämtlich blaß gefärbt, keine Kapseln	Nach 5 Stunden: Viel Bacillen, zum Teil gut, zum Teil blaß gefärbt. Keine Kapseln.	Nach 5 Std.: Zieml. viel Bacillen, teils dunkel, teils kaum gefärbt, sämtlich unbekapselt	Nach 5 St.: Nicht viel Bac., gefärbt oder blaß, nur wenige m. schmalen oder mäßig dicken Kapseln	Nach 5 Stunden: Sehr viel Bacillen und kurze Verbände von solchen, gut gefärbt, zumeist mit Kapseln; letztere sind schmal oder mäßig breit, nur wenige breit und dunkel gefärbt	Nach 5 Stunden: Viel Bacillen mit mäßig breiten oder breiten Kapseln; etwa $^1/_3$ derselben kapsellos
9 Std.: Wenig Bacillen, nur hie und da gut gefärbte	9 Std.: Nicht wenig Bac., sämtlich blaß oder sehr blaß gefärbt, viele abnorm schmal	9 Std.: Nicht wenig Bac., gut gefärbte nur sehr spärlich; nur wenige besitzen eine blasse, schmale Kapsel	9 Std.: Nicht viel Bac., gefärbt oder sehr blaß, zumeist kapsellos, zum Teil aber mit schmalen oder breiten blaß gefärbten Kapseln	9 Stunden: Viel Bacillen, zumeist gut gefärbt und bekapselt; die Kapseln sind größtenteils schmal und blaß, nur am äußeren Saum gefärbt; aber es gibt auch sehr breite, geschichtete Kapseln. Außerdem nicht wenig sehr blasse, unbekapselte Bacillen	9 Std.: Ziemlich viel Bacillen, sowohl gefärbte wie auch sehr blasse, etwa zur Hälfte unbekapselt (besonders die blassen), die übrigen mit schmalen oder auch breiten Kapseln
26 Std.: Ziemlich viel Bacillen, zumeist blaß gefärbt, auch stark verlängerte, gequollene, verunstaltete	24 Std.: Nicht viel Bac., fast sämtlich blaß gefärbt	26 Std.: Wenig Bacillen, zum Teil blaß gefärbt	24 Std.: Viel Bacillen, zumeist kapsellos, aber auch solche mit breiten Kapseln, sowie auch ganz blaßgefärbte ohne Kapseln	26 Stunden: Viel Bacillen, auch abnorm lange, zumeist gut gefärbt und bekapselt. Die Kapseln sind schmal, nur hie und da sehr breit. Auch lange, verkrümmte Bacillen ohne Kapseln	24 Stunden: Nicht wenig Bacillen, darunter viel abnorm lange und verkrümmte, zumeist kapsellos oder mit sehr dünnen Kapseln oder an den Polen kappenförmige Kapselreste; wenig breite, doppelt konturierte Kapseln. Nicht wenig kapsellose, gänzlich blasse Bacillen
35 Std.: Nicht wenige Bac., zumeist blaß, auch die gut gefärbten zumeist verunstaltet	33 Std.: Einige Bac., gefärbt oder blaß	35 Std.: Wenig Bacillen, gefärbt oder blaß, viele abnorm schmal	33 Std.: Nicht viel Bac., gefärbt oder blaß, auch lange verkrümmte, wenige m. Spuren von Kapseln od. mäßig breiten Kapseln (auch Kokken)		33 Stunden: Nicht viel Bacillen, zumeist mit Kapseln, letztere sind schmal oder breit und geschichtet. Die Minderzahl der Bacillen ist kapsellos, dünn und blaß

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1	2	3	4	5	6
2. Tag: Sehr wenig Bac., blaß oder kaum gefärbt	2. Tag: Einige sehr blasse, abnorm schmale Bac.	2. Tag: Sehr wenig Bacillen, zumeist blaß und kaum gefärbt	2. Tag: Wenig Bacillen, zum Teil mit mäßig breiten, blaß gefärbt. Kapseln (viel Kokk.). Impfstelle ist saftreich		2. Tag: Wenig Bacillen, zumeist abnorm lang und bekapselt. Die Kapseln sind schmal oder breit und doppelschichtig, nach außen zerfranst. Auch sehr blasse kapsellose Bacillen und leer erscheinende Kapseln
3. Tag: Impfwunde fast zugeheilt. — Wenig Bacillen, gefärbt od. blaß, zum Teil gequollen u. verunstaltet	Weiter nicht untersucht	3. Tag: Impfwunde fast zugeheilt. — Im Impfsaft sah ich einen einzigen, gut gefärbten Bacillus	Weiter nicht untersucht		
Ausgang des Versuches. Leichenbefund.					
Blieb am Leben	Blieb am Le- Leben	Ging nach 5 Tagen (115 Stunden) ein. Um die Impfstelle kein Oedem, jedoch ist die Unterhaut der linken Leistengegend saftreicher und daselbst eine blut- und saftreiche Lymphdrüse. — Im Blute sehr zahlreiche Bacillen und (8—10-gliedrige) Ketten, kapsellos, oder mit sehr schmalen Kapseln, nur wenig mäßig breite Kapseln. Auf Agar wuchsen: Aus Impftasche und Blut zahlr. feuchte Kolonieen von seidenartigem Glanz, die später zusammen- u. hinabflossen	Blieb am Leben	Starb 30 Stunden nach der Infektion. Mikroskopisches Bild des Impfsaftes sofort nach dem Tode ähnlich, wie in der 26. Stunde, jedoch sind jetzt die kapsellosen Bacillen vielleicht zahlreicher. — 20 Stunden nach d. Tode: An der Impfstelle weniger Bacillen, zumeist kapsellos, die wenigen Kapseln sind schmal. Im Blute viel Bacillen u. kurze Ketten, mit und ohne Kapseln. Auf Agar wuchsen: Aus Blut sehr zahlreiche, aus der Impfstelle minder zahlreiche gestrichelte, etwas feucht glänzende Kol., die auch nach 2 Tagen nicht konfluieren, jedoch fadenziehend sind	Starb etwa 64 Stunden nach der Impfung. 10 Stunden nach dem Tode: Im Impfsaft wenig Bacillen, mit mäßig breiten Kapseln oder ohne solche (viel Kokken). — Um die Impfstelle reichliches Oedem, welches sich in die Bauchgegend ausbreitet. In diesem Oedem sehr spärliche liche Bac. u. kurze Ketten mit breiten u. sehr breiten Kapseln. — Im Blut sehr viel Bac. und Ketten mit schmalen oder mäßigen Kapseln; zahlreiche leer erscheinende Kapseln. Auf Agar wuchsen: 1) Aus dem Impfsaft nicht viele gestrichelte, dicke, feuchte Kolonieen (auch einige fremde Bakterienarten); 2) aus dem von der Impfstelle entfernten Oedem u. aus dem Blut zahlr. gestrichelte, glänzend feuchte, bereits n. 24 Std. hinab- und zusammenfließende Kolonieen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.
Verhalten der 6 Varietäten bei Kaninchen.

1.	2.	3.	4.	5.	6.
Nach 5 Stunden: Sehr wenig Bacillen, abnorm lang, dünn, kapsellos, fast sämtlich blaß gefärbt	Nach 5 Std.: Wenig Bacillen, zum Teil abnorm lang, blaß oder sehr blaß gefärbt. Keine Kapseln	Nach 5 Stn.: Zieml. viel Bacillen zumeist kapsellos, wenige mit mäßig breiten Kapseln	Nach 5 Std.: Keine Bacillen zu sehen (mißlungene Entnahme d. Materials?)	Nach 5 Std.: Nicht wenig Bacillen, zumeist kapsellos und sehr blaß gefärbt, nur wenige mit schmalen Kapseln	Nach 5 Std.: Wenig Bacillen, zumeist sehr blaß gefärbt, schollig, kaum erkennbar. Keine Kapseln
9 Std.: Sehr wenige blasse und sehr blasse Bacillen, nur hier u. da dunkel gefärbte. Keine Kapseln	9 Std.: Einige Bacillen, blasse und gefärbte. Keine Kapseln	9 Std.: Hier und da ein Bacillus, gefärbt oder blaß; keine Kapseln	9 Std.: Keine Bacillen zu sehen	9 Std.: Wenig Bacillen, blaß, zum Teil schollig (abgestorben), sämtl. ohne Kapseln	9 Std.: Wenig Bacillen, zumeist blaß gefärbt, an manchen scheinbar Kapselüberreste (?)
26 Std.: Einige sehr blasse Bacillen. Keine Kapseln	24 Std.: Einige Bacillen, gefärbt. Keine Kapseln	26 Std.: Einige gefärbte od. blasse Bacillen	24 Std.: Einige sehr blasse, schollige Bacillen	26 Std.: Nicht wenige Bacillen, blaß, zumeist kaum gefärbt, dünn. Keine Kapseln	24 Std.: Einige Bacillen. Keine Kapseln
35 Std.: Sehr wenig Bacillen, sehr blaß gefärbt, zumeist schollig, kaum erkennbar	33 Std.: Einige Bacillen, zumeist blaß oder kaum gefärbt	35 Std.: Keine freien Bacillen, nur in einig. Eiterzellen noch erkennbare Reste oder Leichen von Bacillen	33 Std.: Einige noch erkennbare, blasse Bacillen	35 Std.: Sehr wenige Bacillen, blaß, nur hier und da vereinzelte dunkel gefärbte	33 Std.: Im ganzen Präparat ein einziger deformierter Bacillus
2 Tage: Freiliegend keine, in einigen Eiterzellen jedoch noch erkennbare Bacillen	2 Tage: Einige noch erkennbare, blasse Bacillen	2 Tage: So wie bei 1). An der Impfstelle ein kleiner Knoten	2 Tage: Keine Bacillen zu sehen	2 Tg.: Wenig Bacillen, zum Teil gut gefärbt mit schmalen, einige mit breiten Kapseln; die meisten sind jedoch blaß, schollig. Impfstelle geschwollen und gerötet	2 Tage: 1—2 blasse, fragliche Bacillenformen
3 Tage: Keine Bacillen. Impfwunde war verheilt, ihre Umgebung nicht geschwollen	Weiter nicht untersucht	3 Tage: So wie bei 1)	Weiter nicht untersucht	3 Tage (hatte inzwischen verworfen): Hier und da ein gefärbter od. blasser Bacillus. Um die Impfstelle die Haut gerötet	Weiter nicht untersucht
Blieb am Leben	Blieb am Leben	Blieb am Leben	Blieb am Leben	Ging am 5. Tage ein. An der Impfstelle kaum ein Oedem, sondern in der Sakralgegend, am linken Schenkel und linker Leistengegend; daselbst eine geschwollene hämorrhagische Lymphdrüse. Im Safte der Impftasche und im ferneren Oedem keine Bacillen zu sehen. Im Blute wenig Bacillen und kurze Ketten mit schmalen Kapseln und ohne solche. Auf Agar wuchsen aus Blut viele gestrichelte, etwas feuchte Kolonieen; aus Oedem gedieh nichts.	Blieb am Leben

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

über die relative Menge der bekapselten Stäbchen, so lassen sich zwischen den 4 Abarten folgende Unterschiede feststellen.

Bei der 3. Abart nimmt die Zahl der Bacillen zwar beträchtlich ab, ihre Mehrzahl jedoch ist bekapselt; erst zu Beginn des 3. Tages (bereits in der Leiche) wiegen die kapsellosen Keime vor, obgleich breite Kapseln noch immer vorhanden sind.

Bei der 4. Abart nahm die Zahl der Keime bereits innerhalb des ersten Tages bedeutend ab, auch die der Kapseln so, daß ich schon am ersten Tage überwiegend oder fast ausschließlich kapsellose Bacillen vorfand (s. Tafel I, Fig. 8—10); doch blieben auch noch bekapselte Stäbchen bis ans Ende.

Bei der 5. Varietät blieben die Keime bis zum Tode zahlreich und ihre Mehrzahl war bekapselt (Tafel I, Fig. 3—5).

Der Befund von Varietät 6 ist dem vorigen ähnlich, mit dem Unterschiede jedoch, daß gegen Ende des ersten Tages die kapsellosen Keime in der Ueberzahl, und die Kapseln im allgemeinen weniger reichlich gewesen, als bei der 5. Abart.

Es sei bemerkt, daß die schleimigen Varietäten in der Umgebung der Impfstelle ein reichlicheres Oedem erzeugten, als die nicht schleimigen.

Da sich sonach bei den für Mäuse virulenten Abarten sowohl hinsichtlich der absoluten Menge der Stäbchen, wie auch hinsichtlich der relativen Anzahl der Kapselbacillen ziemlich wesentliche Unterschiede zeigten, so mußte ich als wahrscheinlich voraussetzen, daß diese Unterschiede bei weniger empfänglichen Tieren noch mehr hervortreten werden, und vielleicht nicht sämtliche Abarten sich virulent verhalten dürften.

Die Tabelle II führt die an Meerschweinchen mit denselben 6 Varietäten angestellten Versuche vor.

Aus dieser Zusammenstellung läßt sich folgendes ablesen.

Die zwei ersten Varietäten, die für Mäuse am wenigsten virulent gewesen, starben auch bei Meerschweinchen zumeist innerhalb des ersten Tages ab, erzeugten keine Kapseln und töteten die Tiere nicht.

Die Stäbchen der 3. Varietät nahmen zwar auch schon vom Beginn der Infektion an ab, doch war ein Teil der Bacillen innerhalb des ersten Tages bekapselt; das Meerschweinchen ging sehr spät, erst gegen Ende des 5. Tages, ein.

Bei der 4. Varietät hatte die Zahl der Stäbchen am 2. Tage zwar abgenommen, doch gab es noch Bacillen mit breiten, blaß gefärbten Kapseln. Das Meerschweinchen blieb am Leben.

Die Bacillen der 5. Varietät befanden sich zu Beginn des zweiten Tages noch in großer Anzahl an der Impfstelle, zum größten Teil mit Kapseln, und töteten das Versuchstier schon binnen 30 Stunden.

Die 6. Varietät war der 5. ähnlich, jedoch enthielt sie im Vergleich zur letzteren (nämlich in der 9. und 26. Stunde) weniger bekapselte Formen und tötete um vieles langsamer.

Von den 6 Spielarten tötete demnach nur eine, nämlich die erste, die Maus nicht, und drei (die 1., 2. und 4.) töteten Meerschweinchen nicht.

Auch die Meerschweinchen tötenden 3 Stämme verhielten sich verschieden an der Impfstelle dieser Tiere, und zwar war vornehmlich das Verhalten des 3. Stammes von dem des 5. und 6. verschieden.

Ich infizierte nun Kaninchen, um die Virulenz der 6 Abarten weiter zu analysieren.

Das Ergebnis der Kaninchenimpfung ist durch Tabelle III ersichtlich gemacht.

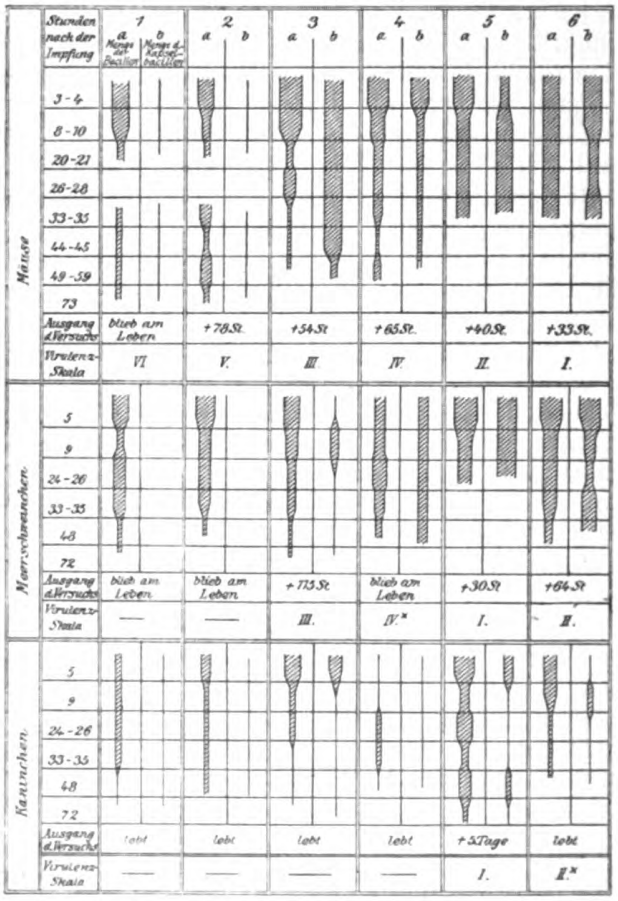
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Von den 6 Varietäten tötete demnach nur eine das Kaninchen, nämlich die 5., und zwar langsam, erst gegen Ende des 5. Tages.

Da es nicht leicht ist, die in den vorausgeschickten 3 Tabellen zusammengestellten Ergebnisse im Gedächtnisse zu vergleichen, so stellte ich in folgender Tabelle die wichtigsten Ergebnisse synoptisch zusammen. In dieser entsprechen jeder Varietät zwei senkrechte Rubriken. In der ersten Rubrik (a) ist die Anzahl der im Safte der Impfstelle von Zeit zu Zeit vorgefundenen Bacillen in Gestalt einer bandförmigen schraffierten Fläche dargestellt; in der zweiten Rubrik (b) ist in ähnlicher Weise veranschaulicht, ob ein großer oder nur ein kleinerer Teil der vorgefundenen Bacillen bekapselt gewesen ist. Wo die schraffierte Fläche sich zur Linie verjüngt, sind die Werte gleich Null.

Tabelle IV.

Synoptische Darstellung der absoluten Menge der Bacillen und der relativen Anzahl der bekapselten Bacillen bei den 6 Varietäten im Tierversuch.



Aus dieser IV. Tabelle geht mit Bestimmtheit hervor, daß zwischen den an der Impfstelle überhaupt vorgefundenen Keimen und der Anzahl der bekapselten Keime ein gewisser Parallelismus besteht. Wo die Anzahl der Bacillen beständig eine große ist, dort bleibt auch die Anzahl der kapselführenden verhältnismäßig groß; wo dagegen die Bacillen mittlerweile beträchtlich geschwunden sind, dort nimmt auch die Anzahl der bekapselten ab, oder es fehlen solche auch gänzlich.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ferner ist aus der Tabelle ersichtlich, daß je größer und beständiger die Menge der Bacillen und unter diesen die der bekapselten ist, die betreffende Varietät auch um so virulenter ist. So ist z. B., nach den an Mäusen ausgeführten Versuchen zu urteilen, die 5. Varietät die virulenteste, denn die Anzahl der Bacillen und unter diesen die der bekapselten ist beständig am höchsten geblieben; und in der Tat erwies sich dieser Stamm beim Meerschweinchen und Kaninchen als der virulenteste, so wie er sich gelegentlich eines anderen Versuches mit den 6 Varietäten auch für die Maus als der virulenteste erwies. In bezug auf diese geschilderten Verhältnisse sind die Unterschiede zwischen der 5. und 6. Varietät bei Mäusen noch sehr wenig, bei Meerschweinchen und Kaninchen dagegen schon mehr ins Auge fallend. Beim Kaninchen schwanden eben nur die Stäbchen der 5. Varietät nicht stürmisch rasch und bekapselte Bacillen fanden sich am 2. Tage nur noch bei dieser Varietät; dementsprechend war auch für das Kaninchen eben nur diese Varietät tödlich. Jedoch war diese Virulenz dem Kaninchen gegenüber gering, denn der Tod erfolgte erst nach 5 Tagen.

Es dürfte nicht uninteressant sein, darauf hinzuweisen, daß sich die Reihenfolge der Virulenz der 6 Varietäten auf Grund der Tabelle IV, vielleicht mit unbedeutenden Fehlern, leicht bestimmen läßt. So folgt, den Meerschweinchenversuchen nach zu urteilen, in der Virulenzskala nach den 3 tötenden Stämmen (3, 5, 6) von den nicht tötenden der 4. Stamm, denn die Abnahme der Bacillen erfolgte da weniger rasch, als bei den Varietäten 1 und 2 und auch waren noch am 2. Tage bekapselte Keime vorhanden. Laut des Mäuseversuches steht die 4. Varietät hinsichtlich der Virulenz tatsächlich an 4. Stelle.

Der graphischen Darstellung nach hätte zwar auch der 4. Stamm das Meerschweinchen töten sollen; doch ist es möglich, daß die bestehende Mischinfektion (s. Tabelle II) oder die Individualität des Tieres sein Ueberleben verursachte. Mathematisch stimmende Ergebnisse dürfen doch bei solchen Versuchen nicht erwartet werden.

Aus dem Ergebnisse der Kaninchenversuche ferner läßt sich folgern, daß nach der tötenden 5. Varietät die 6. und 3. Abart die virulenteste ist; die Meerschweinchenversuche bestätigen dies auch, denn die Meerschweinchen wurden getötet durch die Varietäten 3, 5 und 6.

In den Fällen, wo sich an der Impfstelle keine bekapselten Bacillen fanden, äußerte sich auch kein Tötungsvermögen.

Was das Vermögen des 2. Stammes bei scheinbarem Mangel der Kapselbildung Mäuse zu töten anbetrifft, so will ich nur bemerken, daß ein sehr geringer Grad der Kapselbildung durch die angewendete Methode leicht übersehen werden konnte.

Betrachtet man das Verhalten jener 4 Varietäten (3.—6.), die im Körper der Versuchstiere Kapseln bildeten, in ihren Agarkulturen, so ist leicht ersichtlich, daß von ihnen die am wenigsten virulente 4. Varietät, deren kapselführende Stäbchen sich in der Maus am raschesten vermindert hatten und die bei Kaninchen Kapseln gar nicht erzeugte, auf Agar dünnflüssige, rasch zusammen- und abfließende Kolonieen bildete, deren Bacillen schon am 3. Tage größtenteils kapsellos geworden sind (Taf. I, Fig. 6—7). Demgegenüber ergab die 3., 5. und 6. Varietät auf Agar zwar gleichfalls muköse Kolonieen, jedoch war die Substanz der Kapseln fester, löste sich nicht schon am 3. Tage vom Leibe der Bacillen los, denn diese waren zu dieser Zeit sämtlich oder doch zum größten Teil noch bekapselt. Dabei aber wiesen diese 3 Abarten auch unter-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einander entschieden solche kulturelle Unterschiede auf, welche auf eine Verschiedenheit des zeitlichen Verlaufes der Kapselbildung und der Konsistenz der Kapseln hindeuten. Die Agarkolonieen der 3. Varietät waren von seidenartigem Glanze, ein wenig glasig, was auf relativ rasch entstehende und dünnflüssige Kapseln hinweist; die 5. und 6. Varietät wuchs anfangs in Form gestrichelter, erst später zusammenfließender Kolonieen, was ein Zeichen verzögerter Kapselproduktion ist. Die Kolonieen der 5. Varietät flossen später bloß zusammen, die der 6. Varietät dagegen auch auf schrägem Agar hinab, was darauf hinweist, daß die Kapselsubstanz der 6. Varietät von weicherer Beschaffenheit gewesen ist als diejenige der 5.

Bei meinen angeführten Versuchen zeigte sich demnach ein unzweifelhafter Zusammenhang zwischen dem Vermögen der Kapselbildung, dem Umfange und der Konsistenz der Kapseln, dem zeitlichen Verlaufe der Kapselproduktion einerseits und der Virulenz andererseits bei den verschiedenen Varietäten.

Aus den vorgelegten Tierversuchen ging hervor, daß Spielarten, die auf Agar rasch Kapseln erzeugen und diese Kapseln rasch verlieren, auch im Tierkörper die Kapseln rascher und massenhafter verlieren als Varietäten, die auf Agar langsam, aber festere und dauerhaftere Kapseln erzeugen. Ein Vergleich der von der 4. und 5. Varietät aufgenommenen Photogramme veranschaulicht diese Verhältnisse (Taf. I).

Die 4. Varietät weist auf Agar zwar schon am 1. Tage viel breitere Kapseln auf als die 5., und doch finden sich im Impfsafte der damit infizierten Maus am Ende des 1. und zu Beginn des 2. Tages selbst sehr spärliche Kapseln kaum mehr, während die 5. Varietät in der Maus zur selben Zeit noch sehr breite Kapseln besaß. Daß die 4. Varietät dünnflüssigere Kapseln erzeugt, ergibt sich nicht nur daraus, daß die Kultur weich, herabfließend war, sondern auch daraus, daß sie schon am 1. Tage bloß vereinzelte, höchstens aber aus 2—3 Gliedern bestehende kurze Verbände enthielt, was die Folge der raschen Verflüssigung der zwischen den einzelnen Zellen befindlichen Zellwände zu sein pflegt. Daß ferner eine solche dünnflüssige Kapselsubstanz sich schneller vom Leibe der Bacillen ablöst, ersieht man daraus, daß die 4. Varietät auf Agar schon am 3. Tage hauptsächlich aus kapsellosen Bacillen bestand. Dagegen war bei der 5. Varietät die Kapselbildung auf Agar zwar weniger reichlich, jedoch langsamer, denn selbst noch am 3. Tage fanden sich viele breitbekapselte Stäbchen; dabei ist hier die Kapsel fester und hält die Bacillen in Ketten zusammen. Die festere Konsistenz der Kapselsubstanz dieser Abart verriet sich außerdem noch durch die festere Konsistenz der Kulturen, im mikroskopischen Präparate aber durch die besonders in den äußeren Schichten der Kapseln zu beobachtende stärkere Färbung.

Von den mukösen Varietäten sind sonach jene, die rasch Kapseln bilden und deren Kapseln dünn, schnell zerfließend und leicht löslich sind, weniger virulent als diejenigen, welche langsam entstehende, aber festere Kapseln erzeugen. Dies habe ich nicht nur gelegentlich der in obigen Tabellen zusammengefaßten Versuche, sondern auch im Laufe vieler anderer Versuche beobachtet, welche ich mit Stämmen verschiedener Herkunft, aber von ähnlichen Eigenschaften anstellte. Zahlreiche Impfversuche an Mäusen zeigten mir, daß die auf Agar dünnflüssigen, zusammen- und herabfließenden Varietäten stets erst nach längerer Frist

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

töteten als die festeren, zähschleimigen, anfangs oft noch grob gestrichelten Varietäten.

Es ist gleichsam selbstverständlich, daß jene abgeschwächten Abarten, die in der Agarkultur gar nicht schleimig erscheinen, und deren Kolonieen ich teils als homogen weißlich, teils als gestrichelt bezeichnete, sich mikroskopisch und im Tierversuche auch nicht gleich verhielten. Es gibt deren solche, die schon in der Kultur eine beträchtliche Anzahl bekapselter Individuen aufweisen, welche Eigenschaft dann auch im Tierversuche darin zum Ausdruck kommt, daß um einzelne Bacillen oder Bacillenketten ein schmaler, zumeist nur blaß färbbarer Hof oder an den Bacillenenden je eine kleine, halbmondförmige Kappe sichtbar gemacht werden kann, die jedoch in den späteren Stunden verschwindet. Dieser Art sind jene Varietäten, die zuweilen Mäuse noch töten, sich aber im Blute nicht vermehrten und für größere Tiere auch nicht mehr todbringend waren. Ferner gibt es Varietäten, welche weder in Kulturen, noch im Tierkörper Kapseln erzeugen, und solche Varietäten töteten selbst Mäuse niemals.

Aus all diesen Wahrnehmungen mußte ich den Schluß ziehen, daß die Virulenz des Milzbrandbacillus mit seinem Kapselbildungsvermögen im allerinnigsten Zusammenhange steht; das Variieren dieses Vermögens äußert sich im zeitlichen Verlaufe der Kapselbildung, sowie in der Breite und Konsistenz der erzeugten Kapseln.

Eigene Abschwächungsversuche durch Züchtung bei erhöhter Temperatur.

Ueber die Herstellung und Entwickelungsbedingungen der aus dem Pasteur-Chamberlandschen Laboratorium stammenden und im vorigen Kapitel eingehender beschriebenen Varietäten hatte ich keine genauen Kenntnisse. Pasteur und seine Mitarbeiter (Chamberland, Roux) teilten wohl seinerzeit mit, daß sie die Milzbrandimpfstoffe durch Züchten bei höheren Temperaturen (42—43° C) gewinnen; es blieb aber dahingestellt, ob die Vaccins auch später noch durch ein ähnliches Verfahren erzeugt wurden oder ob das Verfahren modifiziert wurde und in welcher Weise.

Ich wollte mich daher überzeugen, ob die Züchtung bei höherer Temperatur imstande ist, aus normalen virulenten Milzbrandkeimen ebensolche Varietäten hervorzubringen, wie ich sie im Pasteurschen Impfstoff nachwies.

Behufs dessen züchtete ich bei 42,5° C längere Zeit hindurch teils in Kalbfleischbouillon (ohne Pepton), teils auf gewöhnlichem Peptonagar einen normal virulenten Stamm derart, daß ich jede Kultur täglich weiterimpfte, d. h. aus der 1. Generation am 2. Tage eine 2. Generation, aus dieser am 3. Tage eine 3. Generation abimpfte usf.

Das Ausgangsmaterial bildete das Blut einer mit dem betreffenden virulenten Stamm infizierten Maus, folglich sporenfreie Bacillen.

Zeitweise entnahm ich den bei höherer Temperatur gezüchteten Kulturen Proben und beschickte damit Agar bei 37° C, um zu beobachten, ob verschiedene Varietäten entstanden sind oder nicht.

Bei diesem Versuche beobachtete ich folgendes:

Aus der bei 42,5° C in Bouillon gezüchteten 20. Generation wuchsen auf Agar bei 37° C Kolonieen verschiedenen Charakters; manche waren normalen ähnlich, mehr oder minder grob gestrichelt, andere dagegen fein gestrichelt oder strukturlos und weißlich, wieder andere rund, glatt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und glänzend, feucht und schleimig, zum Teil konfluierend oder auch hinabfließend.

Der Unterschied der im Laufe der Abschwächung entstandenen Varietäten wird sich aus folgender Beschreibung ergeben, die sich auf die aus der 20-tägigen Bouillon auf Agar bei 37° C gewachsenen vier Typen von Spielarten bezieht. Die Züchtung und Prüfung geschah unter genau denselben Verhältnissen; bei der mikroskopischen Untersuchung wurde das Material der 4 Varietäten an den 4 Ecken eines einzigen Deckgläschens, sonach unter ganz identischen Verhältnissen, fixiert und gefärbt.

Das makro- und mikroskopische Verhalten der eintägigen Agarkulturen dieser Typen war folgendes:

1. Typus. Weiße, kaum gestrichelte, nicht feuchte und nicht zähe Kolonieen. Mikroskopisch: Ketten mittlerer Länge aus kurzen regelrechten Bacillen, in so manchen sind reife Sporen; auch freie Sporen sichtbar.

2. Typus. Gestrichelte, aber schleimige Kulturen. Das mikroskopische Bild ist wesentlich verschieden von dem des 1. Typus; es gibt keine längeren Ketten, bloß vereinzelte Bacillen und kurze Ketten. Die Bacillen selbst sind länger und schlanker, mit abgerundeten, nicht abgehackten Enden. In vielen Bacillen sind 1—2 kleine Fettkörperchen, aber keine Sporen. Ein Teil der Bacillen ist von schmalen, aber dunkelgefärbten Kapseln umgeben.

3. Typus. Seidenartig glänzende, runde, feuchte, fast homogene Kolonieen. Mikroskopisch mittellange Ketten aus etwas längeren Bacillen mit 1—2 Fettkörperchen; um jeden Bacillenkörper eine wenigstens einfache (= 1 Bac. breite) blasse Kapsel, hie und da vereinzelte Sporen.

4. Typus. Zusammen- und hinabfließende schleimige Kolonieen. Mikroskopisch: Ketten mittlerer Länge, zahlreiche Sporen in Bacillen oder freiliegend; in vielen Bacillen große Fettkörperchen.

Die Agarkulturen dieser vier Varietäten zeigten sich auch in den nächstfolgenden Tagen noch verschieden voneinander, obzwar sie in mancher Beziehung gewisse Veränderungen erlitten hatten.

Es entstanden schon am 2. Tage in der Kultur der 1. Varietät kleine Wärzchen (= sekundäre Kolonieen), welche später sich vergrößerten; die Kultur wurde besonders am unteren Teile des schrägen Agars weiß, was auf das Vorhandensein zahlreicher Sporen hinweist. — Die 2. Varietät, obgleich schleimigen Charakters, verbreitete sich mit gestrichelter Struktur und rauher Oberfläche weiter, erst nach zwei Wochen zeigten sich einzelne Wärzchen, aber Sporen konnte ich auch dann nicht nachweisen. — Die Kultur der 3. Varietät war am 2. Tage zusammenfließend. am 3. Tage schon warzig und hatte viele Sporen. — In der Agarkultur der 4. Varietät sind schon am 3. Tage zahlreiche erhabene feuchte sekundäre Kolonieen, welche mit breiter Kapsel versehene Bacillen enthielten, es entstanden aber auch gestrichelte schleimige Sekundärkolonieen.

Es ergibt sich aus diesen Beobachtungen, daß aus dem normalvirulenten Stamm in Fleischbrühe bei 42,5° C und mittels täglicher Weiterimpfung folgende Varietäten entstanden sind:

1) Auf Agar keine Kapseln bildend, aber stark sporulierende.

2) Auf Agar schmale, aber feste Kapseln, jedoch keine, oder doch nur sehr vereinzelte Sporen bildende.

3) Auf Agar ziemlich breite, langsam konfluierende Kapseln und zugleich Sporen bildende.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4) Auf Agar breite, aber weiche, rasch zerfließende Kapseln und reichlich Sporen bildende.

Außer diesen vier Varietäten gab es aber auch Uebergangsarten, die sich der einen oder der anderen jener Varietäten näherten.

Nun war es erwiesen, daß die zahlreichen Varietäten, welche ich aus den Pasteurschen Impfstoffen kultiviert hatte, aus virulenten Stämmen durch Züchtung bei höherer Temperatur entstehen konnten.

Gelegentlich dieser Abschwächungsversuche konnte ich entschieden beobachten, daß mit der Zahl der Generationen auch die Zahl der auf Agar bei 37° C Schleim bildenden Keime zunahm. So wuchsen auf Agar bei 37° C aus der 40-tägigen (d. h. aus der bei 42,5° C gezüchteten 40. Bouillongeneration) vornehmlich scheimige, aus der 50. aber ausschließlich schleimige Kolonieen; ebenso aus den späteren (60.—70.) Generationen.

Auffallend war es, daß Agar zur Erzeugung von Varietäten sich viel weniger geeignet erwies, als Bouillon. Von der 30. und 40. Agargeneration (= bei 42,5° C gezüchtete 30. und 40. Agarkultur) wuchsen auf frischem Agar bei 37° C nur normalen Anthraxkolonieen ähnliche gestrichelte, rauhe Kolonieen, wogegen unter gleichgestellten Bedingungen aus der 30. und 40. Bouillongeneration desselben Urstammes auf Agar bei 37° C bereits verschiedene, auch schleimige Kolonieen wuchsen. Auf Agar bei 42,5° C konnte ich die Entstehung schleimiger Varietäten auch bis zur 45. Generation nicht beobachten, während — wie bereits erwähnt — in Bouillon schon die 20. Generation zusammen- und abfließende, dünn-schleimige Kolonieen bildende Varietäten erzeugte.

Aber auch in Bouillon bei 42,5° C entstanden keine schleimigen Varietäten, wenn ich die Kultur nicht täglich weiterverimpft hatte. So wuchsen z. B. aus der ersten Bouillongeneration nach 25-tägigem Aufenthalt bei 42,5° C auf Agar verpflanzt bloß zweierlei, und zwar gestrichelte Kolonieen; die eine Spielart bildete rasch und reichlich Sporen, die andere dagegen erwies sich als asporogen. Aehnliches erfuhr ich, als ich aus der bei 42,5° C gehaltenen ersten Bouillongeneration nach 30 bezw. 40 Tagen bei 37° C Agarplatten anlegte. Die so erhaltenen Kolonieen wichen zwar in mancher Beziehung vom Typus der normalen Milzbrandkolonieen ab, insofern sie eine mehr glatte Oberfläche und glatte Ränder hatten und fein oder kaum gestrichelt waren, schleimige Kolonieen aber wuchsen nicht.

Ein Organismus kann um so mehr variieren, eine je längere Reihe von Generationen er durchmacht. Es ist demnach leicht verständlich, daß täglich in einem frischen Nährboden verimpfte Bacillen zahlreichere und vom Urstamm wesentlicher abweichende Spielarten zu erzeugen vermögen, als eine einzige Kultur unter sonst ganz gleichen Bedingungen, da im ersten Falle die Sprossung täglich mit erneuter Kraft einsetzen kann, während sie im letzten Falle bloß so lange dauert, bis der Nährboden nicht gänzlich erschöpft ist.

Ich erachte es als wahrscheinlich, daß das Variieren auf Agar unter gleichen Verhältnissen (täglichem Weiterimpfen bei 42,5° C) deshalb weniger vorschreitet, als in Bouillon, weil die Keime an die feste Oberfläche fixiert und, unfähig die ganze Masse des Nährbodens auszunützen, ihr Wachstum eher einstellten und folglich weniger Generationen erzeugen, als in Bouillon, die sie gründlicher auszunützen vermögen.

Gelegentlich der Analyse des Pasteurschen Vaccins habe ich nachgewiesen, daß die kulturell verschiedenen Varietäten auch betreffs ihrer Virulenz verschieden sind. Ich hatte sonach zu prüfen, wie sich die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Virulenz meiner verschiedenen Varietäten verhalten werde, deren Abschwächungsdauer mir genau bekannt war.

Der besseren Uebersicht wegen habe ich die aus den einzelnen abgeschwächten Stammkulturen isolierten Varietäten in folgenden Tabellen zusammengestellt. Aus letzteren sind die kulturellen und mikroskopischen Eigenschaften, sowie die Virulenz der einzelnen Abarten nebeneinander gestellt.

Tabelle V.

Varietäten aus einer bei 42,5° C 15 Tage lang abgeschwächten (täglich überimpften) Bouillonkultur.

No. der Varietät	Makro- und mikroskopisches Verhalten der Agarkolonieen	Impfresultate					
		Pferd	Schaf	Kaninchen	Meerschweinchen	Zieselmaus	Maus
1	Grob gestrichelt, mit unebenen Rändern, rauhe Oberfläche. — Ketten aus langen Bacillen, keine Kapseln, Sporen auch in der 7-tägigen Kultur nicht zu finden	+[1])	?	+ 36 Std.	+ 40 Std.		+ 46 Std.
2	Weißliche, fast homogene Kolonieen mit glatter Oberfläche und glatten Rändern. — Kurze Ketten aus kurzen Bacillen, keine Kapseln, am 7. Tage lauter Sporen			—[1])	+ 48 Std.		+ 40 Std.
3	Stark erhabene, feuchtglänzende, dünnschleimige Kolonieen. — Ketten aus etwas längeren Bacillen, vereinzelte Bacillen mit Kapseln, viel Sporen		—	—	—	+ $3^1/_2$ Tage	+ 5 Tage

Tabelle VI.

Varietäten aus der 20 Tage lang abgeschwächten Bouillonkultur.

No. der Varietät	Makro- und mikroskopisches Verhalten der Agarkulturen	Impfresultate			
		Schaf	Kaninchen	Meerschweinchen	Graue Maus
1	Grob gestrichelte, flache Kolonieen mit rauher Oberfläche. — Ketten aus kürzeren und längeren Bacillen, keine Sporen, auch nach 10 Tagen nicht	—	—	+ $5^1/_2$ Tage[2])	+ 60 Std.[3])
2	Weißliche, fein gestrichelte, flache Kolonieen mit rauher Oberfläche. — Ketten aus kurzen Gliedern, schon nach 3 Tagen fast lauter Sporen	+ $3^1/_2$ Tage	+ 33 Std.	+ 29 Std.	+ 20 Std.
3	Weiße, homogene Kolonieen mit glatter Oberfläche und glatten Rändern, stärker erhaben. — Ketten aus kurzen Bacillen mit abgestumpften Enden, Sporen auch nach 10 Tagen keine		—	—	—
4	Runde, glatte, stark erhabene, fadenziehende Kolonieen von seidenartigem Gefüge. — Ketten mittlerer Länge, um die Bacillen breite Kapseln, am 3. Tage zahlreiche Sporen		—	—	—

1) + = tötete; — = tötete nicht. — 2) Aus Blut und Milz dieses Versuchstieres erhielt ich auf Agar keine Kultur; aus dem hochgradigen Oedem der Umgebung der Impfstelle wuchsen ähnliche Kolonieen, wie die verimpften waren. — 3) Von der Impfstelle erhielt ich eine Kultur, aus der Milz dagegen keine.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII.
Varietäten aus der 25 Tage lang abgeschwächten Bouillonkultur.

No. der Varietät	Makro- und mikroskopisches Verhalten der Agarkulturen	Impfresultate			
		Schaf	Kaninchen	Meerschweinchen	Maus
1	Grob gestrichelte Kolonieen mit etwas rauher Oberfläche. — Ketten aus kurzen Bacillen, Sporen auch nach Tagen nicht zu sehen	+ $2^1/_2$ Tage	+ 50 Std.	+ 60 Std.	+ 36 Std.
2	Weiße, nur an den Rändern fein gestrichelte Kolonieen. — Ketten aus kurzen Bacillen, schon nach einem Tage viele Sporen	+ $2^1/_2$ Tage	+ 40 Std.	+ 36 Std.	+ 36 Std.
3	Anfangs grob gestrichelte, etwas rauhe, später homogene, bläulich durchscheinende Kolonieen. — Bacillenketten, Sporen auch nach 2 Wochen keine		—	—	—
4	Ueppige, feuchte, fadenziehende, später zusammen- und abfließende Kolonieen von seidenartigem Gefüge. — Kurze Bacillen und Ketten mit breiten Kapseln, schon nach einem Tage viele Sporen		—	—	—

Tabelle VIII.
Varietäten aus der 30 Tage lang abgeschwächten Bouillonkultur.

No. der Varietät	Makro- und mikroskopisches Verhalten der Agarkulturen	Impfresultate		
		Kaninchen	Meerschweinchen	Maus
1	Flache, grob gestrichelte Kolonieen mit rauher Oberfläche. — Ketten aus bedeutend längeren Bacillen, Sporen auch nach Tagen keine	—	—	—
2	Fein gestrichelte, weißliche Kolonieen, mit glatter Oberfläche. — Ketten aus kurzen Bacillen, schon nach einem Tag sehr zahlreiche Sporen	—	—	—
3	Gestrichelte, aber üppig-feuchte, zusammen- und abfließende, stark fadenziehende Kolonieen. — Kurze Bacillen und Ketten, breite Kapseln, schon nach einem Tage viele Sporen	—	—	—

Tabelle IX.
Varietäten aus der 35 Tage hindurch abgeschwächten Bouillonkultur.

No. der Varietät	Makro- und mikroskopisches Verhalten der Agarkulturen	Impfresultate
		Maus
1	Grob gestrichelte Kolonieen mit rauher Oberfläche. — Zumeist aus bedeutend längeren Bacillen gebildete Ketten	—
2	Runde, glatte, feuchte, fadenziehende, zusammen- und abfließende Kolonieen von seidenartigem Glanze. — Bacillen mit sehr breiten Kapseln	—

Aus den in diesen Tabellen zusammengestellten Versuchsergebnissen läßt sich die beachtenswerte Tatsache feststellen, daß ein und dieselbe abgeschwächte Kultur aus Varietäten von sehr verschiedener Virulenz bestehen kann, die sich voneinander isolieren und getrennt untersuchen lassen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach diesen Versuchen war es mir klar, daß meine aus den Pasteurschen Vaccins gezüchteten mannigfaltigen Varietäten durch einen ähnlichen Abschwächungsprozeß entstehen konnten und aller Wahrscheinlichkeit nach auch so entstanden sind. Da ich die Virulenz der aus den Pasteurschen Impfstoffen gezüchteten Varietäten nur an kleineren Tieren erprobt hatte, so konnte die eventuelle höhere Pathogenität der virulentesten Abarten nicht zur Geltung kommen; es zeigen aber die soeben mitgeteilten Tabellen, daß die Virulenz der aus ein und derselben Kultur stammenden Varietäten sich in noch weiteren Grenzen bewegen kann, als ich es von den Abarten aus den Pasteurschen Impfstoffen nachgewiesen hatte.

Die bei 42,5° gezüchtete 15. Generation ergab Varietäten, deren eine (3.) nur mehr Mäuse und Zieselmäuse, eine andere hingegen (1.) sogar noch Pferde tötete. Aus der 20. Generation züchtete ich einerseits solche Varietäten, die selbst Mäuse nicht mehr töteten (3., 4.), andererseits aber auch eine solche, die für einen Hammel noch tödlich war, überraschend jedoch ist es, daß während die 25. Generation noch für Hammel tödliche Abarten ergab, die nur um 5 Tage länger abgeschwächte 30. Generation nicht einmal Mäuse tötende Varietäten mehr lieferte.

Zu bemerken ist, daß außer den angeführten und untersuchten Varietäten in den abgeschwächten Stammkulturen auch noch andere Abarten zugegen waren, die ihren Eigenschaften nach der einen oder anderen der geprüften Varietäten nahe standen; es ist daher wahrscheinlich, daß, wenn ich diese in jedem Falle eingehender analysiert und untersucht hätte, ich auch auf Uebergangsvarietäten in betreff der Virulenz gestoßen wäre, z. B. zwischen der 2. und 3. Varietät der 20- und 25-tägigen Abschwächungsgeneration.

Bei den in obigen Tabellen mitgeteilten Tierversuchen habe ich die Kapselbildung im Tierkörper nicht für jede Varietät systematisch verfolgt, sondern nur in einzelnen Fällen untersucht. Auch hier war jener Zusammenhang zwischen Virulenz und Kapselbildung zu konstatieren, wie bei den Varietäten, die aus Pasteurschen Impfstoffen gezüchtet wurden. So sind z. B. die Bacillen der 2. Varietät aus der 25. Bouillonkultur im Meerschweinchenkörper gekapselt und die Kapseln dauerhaft; die 4. Varietät ist zwar ebenfalls gekapselt, die Kapseln sind sogar reichlicher, lösen sich aber sehr bald von den Bacillen ab; dementsprechend blieb die 2. Varietät im Tierkörper länger am Leben und tötete das Tier, die 4. dagegen ging im Tierkörper zugrunde, bevor sie das Tier hätte töten können.

Beachtenswert sind ferner die Sporenbildungsverhältnisse bei den verschiedenen abgeschwächten Abarten, besonders wenn sie im Verhältnis zur Virulenz betrachtet werden.

Aus ein und derselben abgeschwächten Kultur erhielt ich einerseits Varietäten mit normaler Sporenbildung, andererseits solche ohne Sporenbildungsvermögen. Hier sei bemerkt, daß die Bezeichnung „asporogen" nicht immer in absolutem Sinne zu nehmen ist, denn es kommt vor, daß ältere Kulturen, die mikroskopisch vollkommen sporenlos und lediglich aus Bacillendetritus bestehend erscheinen, weiter geimpft doch noch eine neue Generation erzeugen, woraus man notwendigerweise auf die Gegenwart weniger Sporen schließen muß; denn absolut asporogene Kulturen sterben in verhältnismäßig kurzer Zeit gänzlich aus.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die große Variabilität des Sporenbildungsvermögens bei den einzelnen Abarten, wie sie aus den obigen Tabellen zu ersehen ist, liefert einen weiteren Beweis für die den einzelnen Bacillen innewohnende und vererbbare Individualität.

Das mehr oder minder vollkommene Erlöschen des Sporenbildungsvermögens konnte ich bei meinen sämtlichen Abschwächungsversuchen konstatieren, sowie auch die Tatsache, daß diese Erscheinung nicht mit der Abnahme der Virulenz parallel geht. Die Tabellen zeigen, daß sowohl unter den virulenten, wie auch unter den avirulenten Abarten asporogene und sporenbildende in gleicher Weise vorkommen.

Es existiert also kein Parallelismus zwischen Sporenbildungsvermögen und Virulenz; trotzdem kann die Gegenwart von asporogenen Varietäten die Virulenz abgeschwächter Kulturen wesentlich beeinflussen, und dieser Einfluß kann auch von praktischer Wichtigkeit sein, wie ich im folgenden zeigen möchte.

Ist in einer Kultur infolge eines Abschwächungsvorganges unter anderen eine asporogene Varietät entstanden, ist aber eben diese die virulenteste, so kann es vorkommen, daß die Virulenz einer solchen älteren Kultur infolge des Aussterbens dieser asporogenen Varietät plötzlich bedeutend schwächer wird. Wenn z. B. in der 15-tägigen abgeschwächten Kultur, die in der Tabelle mit 1 bezeichnete Varietät, die sogar das Pferd zu töten vermochte, aber asporogen war, ausstirbt, so vermag diese Kultur von diesem Zeitpunkt an auch Kaninchen nicht mehr, sondern nur Mäuse und Meerschweinchen zu töten. Man kann sich leicht eine virulente Mischung von Varietäten denken, die aus ähnlichem Grunde vollkommen avirulent wird, wenn nämlich eben nur die avirulenten Abarten sporenbildend gewesen, die virulenten hingegen asporogen und abgestorben sind.

Aus alldem ist zu ersehen, wie wichtig es ist, wenn es sich darum handelt, die Stärke eines Impfstoffes möglichst unverändert zu erhalten, genau zu wissen, ob der Impfstoff eine oder mehrere Varietäten enthält und wie sich das Sporenbildungsvermögen bei den einzelnen Abarten verhält.

Normale Milzbrandstämme verschiedener Herkunft verhalten sich jedoch einem ganz ähnlichen Abschwächungsverfahren gegenüber bei weitem nicht gleich. Es entsteht nicht in jedem Falle eine so große Anzahl von Varietäten, wie ich es im Falle des soeben geschilderten Abschwächungsversuches oder bei den Pasteurschen Impfstoffen beobachtet habe. Namentlich kommt es nicht immer zur Entwickelung schleimiger Abarten.

Bei einem anderen Stamm habe ich die Abschwächung bei 42,5° derart durchgeführt, daß ich die Kulturen in Zeiträumen von je 2 Tagen weiterimpfte, und zwar in doppelter Reihe, nämlich auf Agar und in Bouillon. Von Zeit zu Zeit wurden von beiden Reihen Agarkulturen bei 37° angelegt. Auch hier konnte ein Variieren beobachtet werden, jedoch nicht innerhalb so weiter Grenzen, wie bei der obigen Versuchsreihe, wie aus folgendem zu ersehen ist.

Aus der 10. Bouillongeneration (= 2 × 10 Tage bei 42,5° gezüchtet) entwickelten sich auf Agar bei 37° keine typischen Milzbrandkolonieen, sondern glattrandige, runde, fein gestrichelte Kolonieen mit glänzender Oberfläche. — Aus der 12. Bouillongeneration wuchsen schon deutlich zweierlei Kolonieen, und zwar 1) dünne, grobgestrichelte, 2) kleinere, prominentere, glattrandige, fast strukturlose (nicht gestrichelte) Kolo-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nieen, die sich auch mikroskpisch verschieden verhielten, indem sie aus plumpen, längeren Bacillen bestanden, die keine Ketten bildeten und auch nach 48 Stunden (bei 37°) noch sporenlos waren, während die ersteren Kolonieen Bacillenverbände von normalem Aussehen mit bereits reifen Sporen zeigten. Aehnliche zwei Abarten von Kolonieen wuchsen auch aus der 30. Bouillongeneration.

Auch bei dieser Gelegenheit erwies sich das Abschwächungsverfahren in Bouillon der Varietätenbildung günstiger, als jenes auf Agar. Als ich aus der 12. Bouillon- und der 40. Agargeneration bei 37° Agarkulturen anlegte, entwickelten sich aus der 40. Agarkultur Kolonieen von normalem Aussehen (grob gestrichelt mit rauher Oberfläche und rankenförmigen Rändern), aus der 12. Bouillon wuchsen hingegen bereits abnormale Kolonieen (rund, mit glatter Oberfläche und mit glatten Konturen); diese beiderlei Kolonieen waren auch mikroskopisch voneinander wesentlich verschieden, indem die aus der 40. Agargeneration verwickelte Fäden zeigten, bestehend aus kurzen, scharfkantigen Gliedern, während die Bacillen der Kolonieen aus der 12. Bouillongeneration dünner und bedeutend länger waren, abgerundete Enden hatten und längere Ketten nicht bildeten.

Den in Rede stehenden Abschwächungsversuch verfolgte ich bis zur 90. Generation ($= 2 \times 90$ Tage bei 42,5°). Dabei machte ich auch die Beobachtung, daß das Sporulationsvermögen bei der Agarserie mehr abgenommen hatte, als bei der Bouillonserie; so erzeugte die eine aus der 85. Bouillonkultur abgeimpfte Agarkultur bei 37° zahlreiche Sporen, während die 85. Agargeneration ($= 2 \times 85$ bei 42,5°) keine Sporen enthielt und, nach 4 Monaten untersucht, sich als ausgestorben erwies.

Aus den angeführten Versuchsergebnissen läßt sich ersehen, daß das Sporulationsvermögen während des Abschwächungsprozesses nicht allmählich eingebüßt wird und nicht etwa derart, daß immer weniger und weniger Sporen gebildet werden, sondern derart, daß die Generationen einzelner Individuen, d. h. Kolonieen solcher Individuen sporenlos bleiben und als solche aussterben. So wird es verständlich, wenn man aus abgeschwächten Kulturen nebeneinander sowohl reichlich sporenbildende, wie auch gänzlich asporogene Kolonieen erhält. Nichtsdestoweniger gibt es auch solche Abarten, die Sporen nur sehr spärlich, d. h. nur in sehr wenigen Individuen erzeugen.

In Agarkulturen von verschiedenen Abarten lassen sich die asporogenen Spielarten schon mit freiem Auge oder mit der Lupe leicht erkennen; in den ersten Tagen können sie zwar normalen Kolonieen ganz ähnlich sehen, später aber werden sie immer mehr und mehr durchscheinend, bläulich und dünn, während die sporenbildenden Kolonieen prominenter sind, später aber weißlicher und infolge Erscheinens von Sekundärkolonieen warzig werden.

Der Verlust des Sporenbildungsvermögens darf nicht allein dem Abschwächungsverfahren zugeschrieben werden. Auch unter Bedingungen, die für die Sporulation allgemein als sehr günstig anerkannt sind, findet man stets Stäbchen, die, ohne Sporen zu bilden, absterben. Bei der zur Abschwächung benützten höheren Temperatur ist die Anzahl der sporenlosen Zellen eine entschieden größere.

Manche meiner Beobachtungen sprechen dafür, daß zwischen einer sporogenen Ausgangskultur und ihren asporogenen Nachkommen keine längere Reihe von Generationen zu liegen braucht. Man könnte nämlich geneigt sein, anzunehmen, daß bei einer längeren Reihe von täglichen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ueberimpfungen — wobei die meisten Stäbchen gar keine Zeit finden, Sporen zu zeugen — das Sporenbildungsvermögen verloren geht, sozusagen in Vergessenheit gelangt. Dem aber widerspricht die Tatsache, daß ich aus Sporen schon in erster Generation asporogene Kolonieen erhielt. Als ich eine gänzlich avirulente, aber sporogene Varietät (2 × 90 Tage bei 42,5° gezüchtet) in die Unterhaut einer Maus verimpfte, fanden sich daselbst nach 8 Tagen nur mehr Sporen vor; aus diesen Sporen wuchsen nun auf Agar neben sporenbildenden auch typische und völlig asporogene Kolonieen.

Ich möchte nicht unerwähnt lassen, daß ich unter den äußerst mannigfachen Formen, in welchen die verschiedenen Abarten des Milzbrandstäbchens erscheinen können, sehr selten (im ganzen zweimal) in älteren Kulturen auch verzweigte Milzbrandbacillen zu sehen Gelegenheit hatte.

Sporulationsvermögen und Virulenz vermindern sich aber nicht nur infolge von Einwirkung höherer Temperaturen, sondern auch bei Zimmertemperatur, wenn die Kulturen lange Reihen von Generationen erzeugen. So konnte ich wiederholt beobachten, daß normale virulente Stämme, die ich bei 20—25° C täglich von Agar auf Agar fortgezüchtet hatte, nach Monaten kaum mehr Sporen erzeugten, und dabei nicht nur Kaninchen nicht mehr, sondern auch Mäuse nur unsicher töteten.

Die Widerstandsfähigkeit der Sporen von abgeschwächten Varietäten dürfte wohl kaum geringer sein, als die von virulenten Stämmen; dieser Umstand ist aber für die Infektionsfähigkeit ohne Belang, denn der Ausgang der Infektion, die Virulenz hängt lediglich von der Widerstandskraft der aus den Sporen hervorgehenden Keime ab. Ich fand Sporen einer avirulenten Abart (2 × 90 Tage, 42,5°) in der Unterhaut einer Maus nach 20 Tagen lebensfähig, ohne daß sich Milzbrand entwickelt hätte.

Die Möglichkeit des Variierens ist für einen Organismus um so mehr gegeben, je zahlreichere Generationen er zu passieren die Gelegenheit hat. Da nun aber der Milzbrandbacillus auch bei der zur Abschwächung verwendeten höheren Temperatur am üppigsten in den ersten 1—2 Tagen gedeiht, so ist zu erwarten, daß abgeschwächte Varietäten rascher entstehen werden, wenn die Fortimpfung der abzuschwächenden Kultur (bei 42,5°) in kürzeren Zeiträumen geschieht, und so den Keimen Gelegenheit gegeben wird, stets von neuem üppig zu wachsen und eine lange Reihe von Generationen zu erzeugen.

Folgendes Beispiel diene zur Erläuterung.

In einer 24-stündigen Kultur (bei 42,5°) befinden sich zumeist mehr oder weniger Sporen; diese Sporen aber keimen mit wenig Ausnahmen in dieser Kultur nicht aus und vermehren sich nicht; in frischen Nährböden erzeugen sie dagegen eine Reihe von neuen Generationen, die wieder Sporen bilden oder zum Teil absterben. Erzeugt ein Bacillus innerhalb eines Tages eine x-Anzahl von Generationen, so werden bei täglicher Weiterimpfung auf frischen Nährböden in 10 Tagen 10mal x Generationen erzeugt, wogegen in einer einzigen Kultur innerhalb 10 Tagen gewiß viel weniger Generationen entstehen, da doch die Vermehrung der Keime nach den ersten Tagen abnimmt und gänzlich innehält.

Um den Einfluß der kürzeren oder längeren Zeitintervalle zwischen den Ueberimpfungen der abzuschwächenden Kulturen zu studieren, habe ich drei verschiedene normale Stämme bei 42,5° in Bouillon und auf

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Agar-Agar derart fortgezüchtet, daß eine Serie täglich, eine zweite Serie jeden zweiten Tag, und eine dritte Serie jeden fünften Tag weitergeimpft wurde.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in folgender Tabelle (No. X) veranschaulicht.

Tabelle X[1]).

Abschwächungsversuche mit drei verschiedenen Stämmen in drei-
1, 2 und

Zeitdauer der Abschwächung bei 42,5° C in Tagen	Stamm Cs						Stamm E			
	1		2		5		1		2	
							Zeitraum der Weiter-			
	Agar	Bouillon	Agar	Bouillon	Agar	Bouillon	Agar	Bouillon	Agar	Bouillon
20	□	⊕	□	□	□	□	□	□ — KM	○	□
25	□	○	□	□	□	○	□	□	○	□
30	□	⊕	□	□ — KM	□	□ — KM	□ + KM	□ — KM	○	□
35	□		□		□		□		○	
40		⊙ — Ms		□ + Ms		□ + Ms		□ + Ms		□ + Ms

Beim Durchblick dieser Tabelle muß es auffallen, daß bei einzelnen Reihen die Sporulation beträchtlich abgenommen hat, wenigstens insofern noch nach einigen Tagen die Kulturen mikroskopisch sporenfrei erschienen. Im Erlöschen der Sporulationsfähigkeit läßt sich jedoch keine Regelmäßigkeit erkennen, denn beim Stamm Cs waren es die alltäglich weitergeimpften Bouillonkulturen, bei den Stämmen E und M dagegen die jeden zweiten Tag überimpften Agarkulturen, die sich als asporogen erwiesen.

In bezug auf die Virulenzabnahme war zwischen den verschiedenen Serien kein konsequentes Verhalten festzustellen. Meiner Erwartung entgegen beweist die Tabelle, daß die häufiger überimpften Generationen nicht immer auch mehr abgeschwächt sind, als die in weiteren Zeiträumen fortgezüchteten Serien. Bei Stamm E und M waren zwar die Generationen der alltäglich weitergeimpften Kulturen nach 20 Tagen für Kaninchen und Meerschweinchen nicht mehr virulent, während die binnen derselben Zeit nur jeden 5. Tag überimpften Kulturen für diese Tiere noch tödlich waren; es zeigte sich aber auch das Gegenteil davon. So tötete die täglich weitergeimpfte Agarkultur des Stammes M in der 30. Generation noch Kaninchen und Meerschweinchen, wogegen die

1) □ = Sporen nachweisbar schon in den ersten Tagen.
○ = in den ersten Tagen keine Sporen.
⊙ = auch später (nach Wochen) keine Sporen nachweisbar.
⊕ = die Kultur enthielt auch später keine Sporen und erwies sich durch das Kulturverfahren als ausgestorben.
+ = tötete; — = tötete nicht. Ms = Maus; M = Meerschweinchen; K = Kaninchen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

innerhalb derselben Zeit (d. h. 30 Tagen) nur 6mal überimpfte Kultur für diese Tiere nicht mehr virulent gewesen.

Bemerkenswert ist auch jener Unterschied, der sich innerhalb der einzelnen Serien zwischen den Agar- und Bouillonkulturen zu erkennen gab; so fand ich bei Stamm E und bei täglichen Fortimpfungen die

Tabelle X.

fachen Serien, nämlich durch Ueberimpfung in Zeiträumen von 5 Tagen.

Stamm E		Stamm M					
5		1		2		5	
impfung in Tagen							
Agar	Bouillon	Agar	Bouillon	Agar	Bouillon	Agar	Bouillon
□	□ + KM	□	□ − KM	○	□	□	□ + KM
□	□	□ + KM	□	○	□	□ + M − K	□
○	□ − KM	□ + KM	□	○	□	○ − KM	□
○		□ + KM		○		○	
	□ + Ms		□ + Ms − KM		□ + Ms − KM		□ + Ms − KM

Bouillonkultur nach 20 Tagen für Kaninchen und Meerschweinchen avirulent, während die Agarkultur diese Tiere noch nach 30 Tagen tötete.

Auffallend war es ferner bei dieser Versuchsreihe, daß die der Abschwächung unterworfenen Kulturen nach 30—35 Tagen noch Kaninchen und Meerschweinchen, nach 40 Tagen aber fast sämtlich noch Mäuse zu töten vermochten, während bei anderen Versuchen (s. Tabelle VIII) bereits die 30-tägigen Kulturen für Mäuse avirulent waren.

Die Tabelle No. X beweist trotz ihrer Lückenhaftigkeit zur Genüge, daß die Abnahme der Virulenz des Milzbrandbacillus bei erhöhter Temperatur nicht schablonenmäßig vor sich geht, nämlich daß eine gewisse Abschwächungsdauer nicht einen bestimmten Virulenzgrad resultiert. Die Zeitdauer, die bei 42,5° C das normal virulente Milzbrandstäbchen so weit abschwächt, daß es z. B. Meerschweinchen noch tötet, Kaninchen dagegen nicht, kann sehr verschieden sein und ist im voraus nicht bestimmbar; diese Zeitdauer muß für jeden einzelnen Stamm durch den Versuch bestimmt werden. Es kann nicht als allgemeingültig hingestellt werden, daß z. B. eine virulente Kultur bei 42,5° und alltäglicher Fortimpfung nach x Tagen noch Kaninchen, nach x + y Tagen aber nur mehr Meerschweinchen töten werde usw.

Es ist kaum zweifelhaft, daß virulente Urstämme unter sich solche Unterschiede aufweisen können, zufolge deren der Abschwächungsvorgang bei dem einen rascher, beim anderen dagegen langsamer erfolgt. Abgesehen davon, muß ich aber bei ein und demselben Stamm der Entstehung asporogener Abarten einen wesentlichen Einfluß auf den zeitlichen Verlauf der Abschwächung zuschreiben. Wie aus Tabelle No. X

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ersichtlich, sind die Kulturen mancher Serien stets sporenlos. Ferner habe ich auf Grund vorangegangener Versuche darauf verwiesen, daß während des Abschwächungsverfahrens in einer und derselben Kultur in Hinsicht auf Virulenz und Sporulation höchst verschiedene Abarten entstehen können und des weiteren, daß die Abnahme des Sporulationsvermögens nicht mit der Abnahme der Virulenz Hand in Hand geht, sondern daß gerade die asporogenen Varietäten die virulenteren sein können. Ist aber letzteres der Fall, so kann eine der Abschwächung unterworfene Kultur zufolge Absterbens der asporogenen, aber virulentesten Abarten plötzlich um vieles schwächer, oder gänzlich avirulent werden. Da aber die Abänderung und der gänzliche Schwund des Sporulationsvermögens eine Lebenserscheinung ist, die nicht immer binnen genau derselben Zeit erfolgt, so wird es verständlich, daß in zwei oder mehreren Kulturen eines Urstammes auch bei ganz gleichen Abschwächungsbedingungen die Virulenz nicht notwendigerweise parallel abnehmen muß, sondern daß ein gewisser Grad von Virulenz bei der einen Kultur früher, bei einer anderen aber später sich offenbaren kann.

Durch die Entstehung und das rasche Aussterben asporogener Varietäten möchte ich zum Teil jene scheinbaren Widersprüche erklären, die sich bei dem Abschwächungsversuch der Tabelle X zeigen, so z. B. die Tatsache, daß bei Stamm M die alltäglich überimpfte Serie am 30. Tage noch Kaninchen und Meerschweinchen tötete, wogegen die nur jeden 5. Tag fortgeimpfte Serie am 30. Tage für diese Tiere avirulent gewesen, obgleich man eben ein umgekehrtes Verhalten erwartet hätte.

Daß die Asporogenität und das durch sie bedingte Aussterben einzelner Varietäten den Gang der Virulenzabnahme während des Abschwächungsverfahrens beeinflußt, das ist meinerseits keine unbegründete Annahme. Denn einesteils ist erwiesen, daß bei 42,5° in den Kulturen asporogene Abarten entstehen; so waren die alltäglich weitergeimpften Bouillonkulturen des Stammes Cs am 20. und 30. Tage bereits sporenlos und erwiesen sich später als abgestorben (s. Tabelle X); andererseits habe ich gelegentlich der Isolierung der abgeschwächten Varietäten feststellen können, daß sporogene avirulente und asporogene virulente Varietäten in einer und derselben abgeschwächten Kultur nebeneinander vorhanden sein können. Es kann zufolge dessen leicht vorkommen, daß ein solches Gemisch von Varietäten in frischer Kultur, solange nämlich auch die sporenlosen Stäbchen noch leben, Kaninchen und Meerschweinchen tötet, nach 1—2 Wochen aber auch für Mäuse avirulent wird, wenn nämlich nur mehr die sporogenen, aber avirulenten Abarten leben. Man könnte in solchen Fällen leicht von einer plötzlichen Abnahme der Virulenz reden, und doch liegt nur ein Absterben der virulenten, aber asporogenen Varietäten vor.

Während des Abschwächungsvorganges findet sonach unter den entstehenden Varietäten eine Auslese statt, die zum Untergange der asporogenen Varietäten führt, seien diese virulent oder avirulent; das Aussterben der asporogenen Varietäten und damit ein eventuelles sprungweises Sinken der Virulenz kann in einer Kultur nur dann erfolgen, wenn die asporogenen Abarten Zeit hatten, abzusterben.

Außer dieser Auslese wird der Verlauf der Abschwächung bestimmt durch Eigentümlichkeiten des Milzbrandstäbchens, deren Abänderung zur allmählichen Abnahme der Virulenz führt. Das sichtbare Zeichen dieser

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:29 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Abänderung und der Abnahme der Virulenz ist die Modifizierung oder Verringerung des Kapselbildungsvermögens bis zum völligen oder fast völligen Schwunde des letzteren. Diese Abnahme des Kapselbildungsvermögens erfolgt bei den verschiedenen virulenten Stämmen nicht gleich rasch, folglich wird unter gleichen Abschwächungsbedingungen der eine eher avirulent, als ein anderer.

Das Abnehmen und Schwinden des Kapselbildungsvermögens ist gänzlich unabhängig von der Sporulation; denn es gibt Abarten, die schon längst keine Kapseln erzeugen und avirulent sind, Sporen aber noch reichlich bilden. Als einen solchen nenne ich hier einen 90×2 Tage hindurch abgeschwächten Stamm.

Um festzustellen, ob schleimige Varietäten ihren Charakter trotz Fortzüchtung bei 42,5° C beibehalten, machte ich mit an Seidenfäden getrockneten, bereits 10 Jahre alten Sporen eines solchen Stammes eine Aussaat. Die Agarkultur war auch jetzt, wie vor 10 Jahren, dünnschleimig, bereits nach 16 Stunden zusammen- und abfließend. Während der täglichen Ueberimpfung und Züchtung bei 42,5° tauchten bereits nach einigen Tagen vom ursprünglichen Typus abweichende Kolonieen auf; aus der 10. Generation konnte ich folgende drei Typen von Kolonieen isolieren: 1) grob gestrichelte, bestehend aus kapsellosen Bacillen; 2) kaum gestrichelte, glatte, feucht-glänzende Kolonieen bestehend aus Bacillen mit ziemlich breiten Kapseln; 3) zusammen- und hinabfließende Kolonieen von Bacillen mit sehr breiten, weichen Kapseln. Als ich diese isolierten Typen bei 42,5° weiterzüchtete, machte ich abermals die Erfahrung, daß aus rein erscheinenden schleimigen Kulturen in späteren Generationen nicht nur schleimige, sondern auch gestrichelte, weißliche Kolonieen auftauchten. Dagegen kamen bei den nicht schleimigen Typen bei ähnlicher Behandlung in späteren Generationen keine schleimigen Kolonieen mehr zum Vorschein. Die schleimigen Kolonieen besaßen aber auch in der 41. Generation noch denselben Charakter, den sie zu Beginn des Versuches hatten, woraus man schließen muß, daß das Kapselbildungsvermögen der schleimigen Varietäten nicht leicht Einbuße erleidet, wenngleich aus ihnen zeitweise kapsellose Varietäten hervorgehen können.

Diese schleimige Varietät tötete trotz der 41 Tage lang fortgesetzten Abschwächung noch immer Mäuse; eine aus ihr hervorgegangene und ebensolange abgeschwächte homogene, weiße, nicht kapselbildende Varietät hingegen war avirulent.

Abschwächungsreihen ohne schleimige Varietäten.

Die Beobachtung, daß die Abschwächung auch ohne Entstehung muköser Varietäten vor sich gehen kann, erweckte in mir Zweifel bezüglich der Stichhaltigkeit meiner Deutung der Virulenzverschiedenheiten der diversen mukösen Spielarten; zufolge meiner Untersuchungen an Pasteurschen Vaccins war ich nämlich sehr geneigt anzunehmen, daß der vollvirulente Stamm unbedingt stufenweise auch die verschiedenen mukösen Stadien durchmachen müsse, bevor er sein Kapselbildungsvermögen einbüßt und gänzlich avirulent wird.

Mit der Zeit gewann ich jedoch die Ueberzeugung, daß die Virulenzabnahme auch dann mit der Veränderung, und zwar mit der Verminderung des Kapselbildungsvermögens einhergeht, wenn im Laufe des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Abschwächungsverfahrens schleimige Varietäten gar nicht entstehen. Die solcherweise abgeschwächten Abarten unterscheiden sich auf Agar entweder überhaupt nicht, oder nur unwesentlich vom normalen virulenten Stamm; werden sie jedoch unter Verhältnisse versetzt, die zur Kapselerzeugung geeignet sind, z. B. in inaktiviertes Pferdeserum oder in ein empfängliches Tier, so wird es offenbar, daß sie dem Grade ihrer Abschwächung gemäß geringere Kapseln erzeugen, als virulente Stämme. Vollständig avirulent gewordene Stämme bilden selbst in solchen Medien keine Kapseln mehr.

Um dies zu zeigen, seien hier folgende Versuche angeführt.

Einen virulenten normalen Stamm (A—14) unterwarf ich bei 42,5° auf Agar einer täglichen Weiterverimpfung; aus der 21. Generation konnte ich bei 37° auf Agar schon entschieden zweierlei Kolonieen feststellen, nämlich: 1) fein gestrichelte, weiße Kolonieen mit glatter Oberfläche, welche schon am 2. Tage reich an Sporen waren; 2) grob gestrichelte Kolonieen mit rauher Oberfläche, welche auch später sporenlos blieben. Muköse Kolonieen wuchsen dagegen nicht.

Mit der 26. Generation infizierte ich eine Maus und zur Kontrolle eine andere mit dem ursprünglichen virulenten Stamm unter die Haut; von Zeit zu Zeit entnahm ich der Impftasche je einen infizierten Seidenfaden und untersuchte den Zustand der Bacillen in dessen Saft. Das Untersuchungsergebnis wird durch folgende Tabelle ersichtlich gemacht.

Tabelle XI.

Verhalten virulenter und 26 Tage lang abgeschwächter Bacillen in der Maus.

Nach der Impfung	An der Impfstelle der mit virulenten Bacillen geimpften Maus	An der Impfstelle der mit 26 Tage lang abgeschwächten Bacillen infizierten Maus
7 Std.	Viele Bacillen mit Kapseln mittlerer Stärke	Der Faden ist saftreicher, die Bacillen sind in geringerer Zahl anwesend, als bei der anderen Maus. Kapseln sind nicht vorhanden, oder sind äußerst schmal, aber augenscheinlich hat sich die Kapsel schon von vielen Bacillen abgelöst, denn das mit Gentianaviolett gefärbte (mit 1-proz. Essigsäure extrahierte) Präparat hat einen roten Farbenton. Mehr Leukocyten, als bei der anderen Maus
24 Std.	Die Maus ging vor 1—2 Std. ein. An der Impfstelle sehr viel Bacillen und Ketten mit 1—1½-fachen Kapseln	Dichter eiterähnlicher Saft. Bacillen nicht zahlreich, diese sind kapsellos. Viele Zellen, in denen viele Bacillen
48 Std.		Dicker Saft mit vielen Leukocyten, Bacillen nur sehr spärlich, größtenteils sehr blaß gefärbt
72 Std.		Die Maus ging vor etwa 5—10 Std. ein. An der Impfstelle zahlreiche Leukocyten, hie und da einzelne Bacillen (so wie gestern). Im Blute, in der Milz wenig Bacillen, kurze Ketten, zum Teil mit schmalen Kapseln

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dieser Versuch zeigt, daß sich die Bacillen während des 26 Tage lang dauernden Abschwächungsprozesses in der Agarkultur zwar nicht auffallend veränderten, sich jedoch in der Maus schon wesentlich anders verhielten, als ihr Urstamm, indem sie sich weniger vermehrten, Kapseln kaum erzeugten und die Maus erst binnen 3 Tagen töteten, während der ursprüngliche Stamm in der Maus sich besser vermehrte, ziemlich breite Kapseln erzeugte und schon innerhalb des ersten Tages die Maus tötete.

Ich hatte einen ganz ähnlichen Befund, als ich den Versuch mit einer 40 Tage lang abgeschwächten Kultur wiederholte (s. Fig. 10 u. 11, Taf. II).

Das Kapselerzeugungsvermögen verminderte sich demnach während des Abschwächungsprozesses, was gegenüber dem virulenten Stamme in der Maus durch spärlichere und viel schmälere Kapseln zum Ausdrucke kam und ein spärlicheres Fortkommen, ein zahlreicheres Absterben der Bacillen und somit eine wesentliche Verschleppung des Krankheitsverlaufes zur Folge hatte.

Jedoch nicht nur im lebenden Organismus kommt die Abnahme des Kapselerzeugungsvermögens solcher abgeschwächten Stämme zum Ausdrucke, sondern auch außerhalb desselben in Stoffen, wo der Milzbrandbacillus Kapseln zu erzeugen pflegt, z. B. in inaktiviertem Pferdeserum.

Die Kapselbildung der mehr oder minder abgeschwächten Spielarten im inaktivierten Pferdeserum, gegenüber den virulenten, ist aus folgender Zusammenstellung zu ersehen (s. auch Fig. 8 u. 9, Taf. II).

Tabelle XII.

Verhalten virulenter und abgeschwächter Bacillen in inaktiviertem Pferdeserum.

	Untersucht am	Virulenter Stamm	26 Tage lang abgeschwächter Stamm
I. Versuch	1. Tage	Breite Kapseln an den meisten Bacillen	Weniger bekapselte Bacillen, die Kapseln sind schmäler, ihre Umrisse sind verschwommen
	Untersucht am	**Virulenter Stamm**	**46 Tage lang abgeschwächter Stamm**
II. Versuch	1. Tage	Stärkere Entwickelung; nur einzelne Bacillen und aus wenigen Gliedern bestehende Ketten, sämtlich mit sehr breiten Kapseln. Längere Ketten, Fäden nicht vorhanden	Schwächere Entwickelung; lange Fäden ohne Kapseln
	2. Tage	Zahlreiche breite Kapseln; von einem beträchtlichen Teil der Bacillen löste sich die Kapsel schon ab, Reste sind jedoch noch sichtbar. Auch längere Ketten sind nun sichtbar als gestern	Lange Fäden, und hie und da Spuren von schmalen Kapseln

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	Untersucht am	Virulenter Stamm	50 Tage lang abgeschwächter Stamm
III. Versuch	1. Tage	Entwickelung noch nicht sichtbar	
	2. Tage	Bacillen hauptsächlich einzeln, oder zu zweit, nur hie und da längere Ketten mit charakteristischen breiten, manchmal regelmäßig wellenförmigen Kapseln	Schwächere Entwickelung. Längere Ketten, keine Kapseln
	5. Tage	Mikroskopisches Bild nahezu so, wie am 2. Tage, aber schon zahlreiche Sporen vorhanden	Verschlungene Fäden ohne Kapseln; bloß hie und da ein Fadenteil oder Bacillus mit einer Spur von Kapseln, oder gar mit 1—2-fachen Kapseln

	Untersucht am	Virulenter Stamm	61 Tage lang abgeschwächter Stamm
VI. Versuch	1. u. 2. Tage	Mit freiem Auge keine Entwickelung zu beobachten	
	3. Tage	Einzelne Bacillen und kurze Ketten, sehr schöne breite Kapseln	Nackte Fäden, nur hie und da solche Fadenteile, oder einzelne Bacillen in den Fäden, die von schmalen oder auch sehr breiten Kapseln umgeben sind
	4. Tage	Das Bild ist nahezu so, wie gestern, jedoch sind die Kapseln schmäler und sind schon ziemlich viel Sporen vorhanden	Spärlichere Entwickelung, wie beim virulenten, das mikroskopische Bild ist so, wie gestern
	6. Tage	Beinahe ausnahmslos einzelne Bacillen mit schönen, breiten Kapseln	Kapsellose Fäden und Ketten, nur hie und da mit schmalen und verschwommenen Kapseln versehene Fadenteile

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Abnahme des Kapselbildungsvermögens des abgeschwächten Milzbrandbacillus in geeigneten Medien auch in vitro augenfällig zum Ausdruck kommt. In dieser Beziehung ist der Unterschied zwischen virulenten und stark abgeschwächten Stämmen ein so auffallender, daß man geneigt sein könnte, letztere, lediglich nach dem mikroskopischen Bilde beurteilt, als verschiedene Arten zu betrachten.

Auf den ersten Blick ist es am auffälligsten, daß die abgeschwächten Stämme auch im Serum lange, verschlungene Fäden bilden, so wie man den normalen Milzbrandbacillus auf unseren gebräuchlichen Nährböden wachsen sieht, während sich der virulente bloß in Form einzelner oder doppelter Bacillen höchstens in kurzen Ketten zeigt. Diese Erscheinung erklärt sich leicht dadurch, daß an der Kapselerzeugung auch die miteinander in Berührung stehenden queren Scheidewände der Bacillen teilnehmen; wenn nun diese schleimig erweichen, so lockert sich der Zusammenhang der Glieder und die Fäden und Ketten zerfallen in kürzere Glieder, in ihre elementären Bacillen. Dasselbe geht auch in den Geweben empfänglicher Tiere vor sich, wenn in dieselben Milzbrandfäden eingeführt werden; auch hier zerfallen infolge der Kapsel-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erzeugung die Fäden schon nach wenigen Stunden in kurze Glieder und einzelne Stäbchen. Da hingegen die Zellmembran der abgeschwächten Varietäten im Serum nicht verschleimt, so bleiben die aus einem Bacillus entstandenen Reihen der Generationen in Zusammenhang miteinander und bilden lange Fäden.

Beachtenswert ist es ferner, daß stark abgeschwächte und einer Kapselbildung im allgemeinen kaum mehr fähige Stämme, in inaktiviertem Pferdeserum gezüchtet, hie und da noch immer einzelne Zellen und Ketten aufweisen, die bekapselt sind. Noch merkwürdiger ist die Aeußerungsform dieser Erscheinung; denn nicht etwa die von einer bestimmten Zelle abstammenden ganzen Fäden oder Ketten zeichnen sich durch ihre Bekapselung von den übrigen kapsellosen aus, woraus man schließen könnte, daß es sich um Abkömmlinge einzelner, dem Abschwächungsverfahren trotzender Keime handle, sondern in einzelnen kapsellosen langen Fäden sind es gerade nur einige Glieder (Bacillen), die breite Kapseln besitzen. Die zu einem Faden vereinigten Bacillen sind naturgemäß nicht von gleichem Alter; und obzwar zur Kapselerzeugung ein gewisser Zeitraum nötig ist, so kann der Altersunterschied der Bacillen eines Fadens doch nicht der Grund der erwähnten Erscheinung sein, denn sonst müßte man in ein und demselben Faden ältere (breitere) und jüngere (schmälere) Kapseln nebeneinander beobachten können, eine solche Beobachtung habe ich jedoch niemals gemacht.

Meiner Auffassung nach kann hier nur von exzeptionellen Fähigkeiten einzelner Bacillenindividuen die Rede sein. Unter den Abkömmlingen der durch die Abschwächung veränderten, namentlich der Kapselbildung verlustig gegangenen Zellen befinden sich ausnahmsweise noch solche, welche diese Fähigkeit neuerlich zur Geltung zu bringen vermögen.

Aus ähnlichen individuellen Unterschieden muß man es auch erklären, daß in Kulturen frischer virulenter Stämme auf den gewöhnlichen Nährböden gleichfalls nur hie und da bekapselte Bacillen anzutreffen sind, ferner, daß im empfänglichen Organismus ein großer Teil der verimpften Keime zugrunde geht, während nur ein gewisser, besonders resistenter Teil der Keime zur Entwickelung der Krankheit führt. Aus individuellen Unterschieden erklärt es sich ferner, daß aus einer scheinbar ganz homogenen avirulenten Kultur im Laufe des Abschwächungsprozesses unter ganz übereinstimmenden äußeren Umständen in ein und derselben Kultur voneinander wesentlich abweichende Varietäten entstehen, wie es meine Analyse der Pasteurschen Impfstoffe und meiner abgeschwächten Kulturen ergab.

Bei den soeben erwähnten abgeschwächten, aber nicht schleimigen Abarten konnte ich demnach gleichfalls eine Aenderung der Kapselbildung feststellen, diese Aenderung kam jedoch anders zum Ausdruck, als bei jenen Varietäten, welche sich auf Agar mehr oder minder schleimig entwickelten. Ich muß sonach die bei den abgeschwächten Varietäten beobachteten Veränderungen des Kapselbildungsprozesses in zwei Kategorien teilen, es kann sich nämlich die Kapselbildung 1) qualitativ und 2) quantitativ ändern.

Als qualitativ veränderte Kapselbildung möchte ich die der verschiedenen schleimigen Varietäten bezeichnen, die sich schon in Agar-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kulturen in einer mehr oder minder ausgesprochenen Weise zu erkennen gibt und die zur Folge hat, daß solche Varietäten im tierischen Körper — wenn auch nicht spärlichere — so doch rascher entstehende und gleichfalls rascher zerschmelzende Kapseln erzeugen.

Die quantitativ veränderte Kapselbildung hingegen äußert sich nicht auf gewöhnlichen Nährböden, sondern bloß unter Verhältnissen, die zur Kapselbildung besonders geeignet sind, und zwar dadurch, daß nur wenige Bacillen Kapseln erzeugen und die Kapseln minder reichlich sind, als unter ähnlichen Verhältnissen die der virulenten Bacillen. Damit geht naturgemäß einher, daß Varietäten letzterer Art je nach dem Grade ihrer Abschwächung immer weniger und weniger Kapselsubstanz erzeugen, als die virulenten, bis endlich die vollkommen avirulent gewordenen Abarten überhaupt keine Kapseln mehr erzeugen.

Die Frage, ob die qualitative Aenderung der Kapselbildung nicht zugleich mit einer quantitativen einhergehen kann, in dem Sinne, daß z. B. in inaktivem Pferdeserum bis zu dessen völliger Ausnützung ein muköser Stamm vielleicht weniger Kapselsubstanz erzeugt, als unter gleichen Verhältnissen ein virulenter Stamm, könnte ich mangels diesbezüglicher Versuche nicht beantworten.

Die Modifizierung des Kapselbildungsvermögens sowohl nach der einen wie nach der anderen Richtung hin macht die Virulenzabnahme gleichwohl verständlich, wie ich schon früher ausgeführt habe. Die Virulenz der hinsichtlich ihrer Kapselbildung qualitativ veränderten Varietäten hat abgenommen, weil diese auch im empfänglichen tierischen Organismus rascher und leichter Kapseln erzeugen, diese Kapseln ferner weicher sind und rascher zerfließen, wodurch solche Bacillen den anthracoziden Stoffen im Tierkörper eher zugänglich werden, als die langsamer, aber dauerhaftere Kapseln erzeugenden virulenten Bacillen. Die Varietäten mit quantitativ veränderter Kapselbildung können den schädlichen Säften des infizierten Organismus deshalb weniger widerstehen, weil die Zahl der Kapselbacillen geringer und die erzeugten Kapseln auch weniger reichlich sind.

Zur gehörigen Erwägung dieser Verhältnisse darf nicht außer acht gelassen werden, daß der Milzbrandbacillus selbst im empfänglichsten Tiere keine günstigen oder indifferenten, sondern im Gegenteil mehr oder minder schädliche Verhältnisse vorfindet, was daraus ersichtlich wird, daß an der Impfstelle kein geringer Teil der eingeführten Bacillen zugrunde geht, während ihr Rest zwar Kapseln erzeugt und sich vermehrt, später jedoch gegen das Lebensende des infizierten Organismus gleichfalls massenhaft degeneriert und abstirbt.

Der zwischen dem infizierten empfänglichen Organismus und dem virulenten Milzbrandbacillus sich abspielende Kampf kann auch so charakterisiert werden, daß der Bacillus einen Schritt voraus ist; wenn aber die Resistenz (Virulenz) des Bacillus in einem gewissen Grade abnimmt, so erhalten die bakterienfeindlichen Kräfte des Organismus das Uebergewicht und der Organismus überlebt den Bacillus. Nun obwaltet bei den abgeschwächten Varietäten infolge der qualitativen oder quantitativen Aenderung des Kapselbildungsvermögens tatsächlich eine Abnahme der Resistenz in dem schon früher dargelegten Sinne.

Um die vergänglicheren oder spärlicheren Kapseln als das wesentliche Moment der Abschwächung annehmen zu können, muß die Schutz-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wirkung der Kapseln namentlich im tierischen Organismus auch tatsächlich erwiesen sein.

Kapselschutz und Virulenz.

Um einen klareren Einblick in diesen Zusammenhang zwischen Kapselbildung und Virulenz zu gewinnen, legte ich seinerzeit die vor Jahren gesammelten Forschungsergebnisse beiseite, um die Rolle der Kapsel beim Milzbrandbacillus von normaler Virulenz eingehender zu studieren. Ich habe die Ergebnisse dieser Untersuchungen im 49. Bande dieser Zeitschrift veröffentlicht und glaube auf selbe um so mehr etwas näher eingehen zu müssen, da man in der deutschen Literatur auf Grund einer Arbeit von Fischoeder[1]) die größere Widerstandsfähigkeit des bekapselten Bacillus als widerlegt zu betrachten geneigt scheint.

Daß Fischoeders diesbezügliche Versuche und seine Folgerungen gänzlich wertlos sind, habe ich an anderer Stelle klargelegt[2]).

Durch meine mit dem virulenten Bacillus an den verschiedensten empfänglichen und unempfänglichen Tieren ausgeführten Untersuchungen gewann ich die Ueberzeugung, daß das Schicksal des Milzbrandbacillus im tierischen Organismus lediglich von der Wirkung der Säfte des letzteren auf den Bacillus abhängig ist, und daß die Phagocytose, als bakterienvernichtender Faktor, keine Rolle spielt.

Die in die tierischen Gewebe eingeführten Milzbrandstäbchen sind nicht alle gleichwertig, d. h. nicht von gleicher Lebenskraft; ein gewisser Teil derselben geht selbst im empfänglichsten Tier zugrunde und nur ein Teil bleibt am Leben und vermag, indem er Kapseln erzeugt, im fremden Organismus weiter zu leben und sich zu vermehren. Dieser Teil der Bacillen verbreitet sich in den Geweben, im Blute und tötet den infizierten Organismus. Je weniger anthracozid die Körpersäfte irgendeines Tieres sind, um so weniger Keime sterben ab und um so mehr erzeugen Kapseln. Einzelne — offenbar die am meisten widerstandsfähigen Individuen der in die Gewebe übertragenen Milzbrandkeime — können auch in den für Milzbrand unempfänglichen Tieren Kapseln bilden.

An der Infektionsstelle ist die Vermehrung und Lebensdauer des virulenten Bacillus ebensowenig unbeschränkt, wie in vitro auf künstlichen Nährböden, wo die Bacillen früher oder später zugrunde gehen, wenn sie keine Sporen bilden. Im Körper empfänglicher Tiere kommt es jedoch zu keinem massenhaften Absterben der Keime, denn mittlerweise überschwemmen die Bacillen den Organismus, nachdem sich dessen Schutzkräfte vermindert haben.

Uebrigens ist die im tierischen Organismus gebildete Kapsel kein bleibender Bestandteil des virulenten Bacillus, sowie auch die Kapseln in den Kulturen schleimiger Varietäten nicht beständig sind, sondern sich früher oder später vom Leibe der Bacillen ablösen.

Bei einem Teil der Bacillen, die in die Unterhaut geführt wurden, beginnt alsbald die Bildung der Kapseln, erreicht ihren Höhepunkt, nachher aber lösen sich die Kapseln allmählich auf, werden schmäler, endlich werden früher bekapselte Bacillen wieder nackt und gehen zu-

1) Diese Zeitschrift. Bd. 51.
2) Diese Zeitschrift. Bd. 55.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

grunde. Bei empfänglichen Tieren jedoch gedeiht dieser Vorgang nur bis zu einem gewissen Grade, da diese Tiere mittlerweile in ihrer Widerstandsfähigkeit geschwächt, der allgemeinen Infektion erliegen.

Da ich an sehr zahlreichen, bei empfänglichen und resistenten Tieren ausgeführten Versuchen stets die Beobachtung machte, daß sich die überwiegende Mehrzahl der noch lebenden Bacillen aus den bekapselten, diejenigen der abgestorbenen dagegen aus den kapsellosen zusammensetzt, da ich ferner festgestellt habe, daß die der Agarkultur entnommenen (demnach kapsellosen) Bacillen eines virulenten Stammes in Karbol- und Essigsäurelösungen viel weniger resistent sind als solche Stäbchen desselben Stammes, die vorher in der Maus Kapseln erzeugten; da ferner dieser in der Maus bekapselt gewordene Bacillus auch in der Henne bedeutend länger lebte, als die kapsellosen Bacillen desselben Stammes und da endlich bekapselte Bacillen mit Immunserum behandelte Mäuse zu töten vermochten, kapsellose dagegen nicht, so konnte ich ohne Zögern behaupten, daß die Kapsel den Milzbrandbacillen im tierischen Organismus gegen die schädliche Wirkung der löslichen anthracoziden Stoffe einen Schutz gewährt.

Was ich soeben von der Bedeutung der Kapselbildung des virulenten Bacillus kurz angeführt habe, steht sonach in vollem Einklange mit jenen Erfahrungen, die ich bezüglich der Kapselbildung bei abgeschwächten Varietäten schon früher gemacht hatte und bekräftigte meinen Schluß, daß das Wesentliche der Virulenzverschiedenheit dieser Varietäten, der bald größere, bald geringere Grad des durch die Verschiedenheit der Kapseln bedingten Schutzes sei.

Auf diese Weise erklärt es sich leicht, daß die einer Kapselbildung selbst im tierischen Organismus unfähigen Varietäten ganz avirulent sind, dagegen der in künstlichen Nährböden zwar keine, im tierischen Organismus jedoch feste und sich langsam auflösende Kapseln bildende normale Milzbrandbacillus von hoher Virulenz ist. Ferner ist es verständlich, daß die zwischen diesen beiden Extremen stehenden Varietäten, bei welchen die Kapselbildung entweder minderen Grades ist, oder rascher verläuft, auch in Hinsicht auf ihre Virulenz eine mittlere Stelle einnehmen. Der durch die Kapsel verliehene Schutz ist um so geringer, je weniger reichlich die Kapselbildung war, oder je weicher und dünnflüssiger, d. h. je löslicher die Kapselsubstanz gewesen.

Auf Grund meiner mit vollvirulenten Milzbrandstäbchen ausgeführten Untersuchungen stellte ich als wahrscheinlich hin, daß die Kapsel nicht nur durch einen mechanischen Schutz wirksam ist, sondern daß die Substanz der Kapseln auch die anthracoziden Stoffe des infizierten Organismus abzuschwächen oder unwirksam zu machen vermag. Darauf wies jener Umstand hin, daß ich die schleimige Kapselsubstanz (Anthracomucin) nicht nur an der Impfstelle, sondern auch im Blute und in den inneren Organen der milzbrandkranken Tiere nachweisen konnte, und daß nach dem Erscheinen desselben im Blute das vordem anthracozide Serum (z. B. bei Kaninchen) seine abtötende Kraft eingebüßt hatte. Auch vernichtete der chemisch abgeschiedene Kapselstoff in vitro die Wirkung anthracozider Sera.

Uebrigens erklärt die je nach der Kapselbildung der Varietäten verschiedene Schutzwirkung auch allein die verschiedenen Abstufungen der Virulenz befriedigend.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich wurde während meiner zahlreichen einschlägigen Untersuchungen keiner Erscheinungen gewahr, welche darauf hingewiesen hätten, daß der ausschlaggebende Faktor der Virulenz irgend anderswo zu suchen wäre, als im Kapselbildungsvermögen.

Es könnte wohl in Frage kommen, ob das Wesen der Virulenz nicht in einer anderen, die Kapselbildung begleitenden Eigenschaft des Milzbrandbacillus verborgen sein könnte. Diese Frage kann um so weniger ohne weiteres zurückgewiesen werden, als doch unleugbar gelegentlich der Abschwächung sich die Lebensfunktionen und der Stoffwechsel der Bacillen in der Tat, und zwar andauernd, d. h. in vererbbarer Weise ändern. Denn nur so ist es verständlich, daß sich gewisse Varietäten nicht nur im Tierkörper, sondern auch außerhalb desselben (auf Agar) sowohl untereinander, wie von virulenten Stämmen verschieden verhalten.

Wäre nicht die Kapselbildung und deren Variieren das Wesen der Virulenzschwankung, so könnte es kaum etwas anderes sein, als der veränderte Chemismus des Bacillus, dessen Rolle man sich (wenn man die Kapsel als Schutzeinrichtung außer acht läßt) in der Weise vorstellen müßte, daß abgeschwächte Varietäten im tierischen Körper leichter zugrunde gehen, und zwar entweder weil ihr Protoplasma diesen Säften gegenüber empfindlicher ist, oder weil sie die anthrakoziden Säfte in geringerem Maße zu neutralisieren vermögen als virulentere Varietäten.

Nachfolgend möchte ich den Beweis führen, daß meine Versuchsergebnisse das Obwalten solch anderer Faktoren nicht nur nicht wahrscheinlich machen, sondern vielmehr gegen solche sprechen und die Virulenzschwankungen lediglich auf die Veränderung der Kapselbildungsverhältnisse zurückzuführen gestatten.

Würde das Wesen der Virulenz nicht im Kapselbildungsvermögen liegen, so wäre zu erwarten, daß im Laufe des Abschwächungsprozesses unter den vielen Varietäten auch solche entstehen, die, ohne ein Kapselbildungsvermögen zu besitzen, doch in gewissem Grade virulent sind. Solche Spielarten beobachtete ich jedoch niemals. Wenn ich von jenen Fällen absehe, wo scheinbar kapsellose, bei genauer Prüfung aber doch hier und da noch spärliche Kapseln erzeugende Varietäten binnen längerer Zeit noch Mäuse töteten, sich aber im Blute gewöhnlich nicht vermehrten, so beobachtete ich niemals, daß irgendein Stamm Versuchstiere getötet hätte, ohne Kapseln zu erzeugen. Eine Ausnahme hiervon war nur bei sehr dünnflüssigen schleimigen Varietäten zu beobachten, wo die sehr vergänglichen Kapseln den Bacillen einen sehr kurzdauernden Schutz gewähren (s. die schleimigen Varietäten der Tabellen VI—IX). Hingegen war das Kapselbildungsvermögen stets ein verläßlicher Maßstab für die Virulenz der noch virulenten Varietäten, und zwar derart, daß sich jene Varietät als am virulentesten erwies, deren Bacillen an der Impfstelle die meisten und dauerhaftesten Kapseln erzeugten (s. die Tabellen I bis III).

Wäre das Wesen der Virulenz nicht in der Kapsel gelegen, so müßten die virulenten Varietäten auch nach dem Verluste (Auflösung) ihrer Kapseln im infizierten Organismus noch resistenter und lebensfähiger sein als abgeschwächte Varietäten. Dies konnte ich jedoch niemals beobachten, denn nicht nur bei den abgeschwächten Varietäten,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sondern auch bei den vollvirulenten Stämmen erfolgte nach dem Verluste der Kapseln die Entartung der Bacillen, ihre schwächere Färbbarkeit, infolge des Unterbleibens der Querteilung die Bildung langer, geschlängelter, blutegelförmiger sowie anderer Entartungsformen, und ohne Ausnahme bildeten die kapselführenden Bacillen die Mehrzahl der unversehrten und noch lebenden Keime.

Was aber der gesetzten Annahme am meisten widerspricht, das ist das verschiedene Verhalten, welches einerseits bekapselte virulente Milzbrandbacillen aus der Maus, andererseits kapsellose, direkt aus der Kultur desselben Stammes entnommene Bacillen bekunden. Ich konnte nachweisen, daß eine Zeitlang in der Unterhaut von Mäusen belassene und hierdurch bekapselt gewordene Bacillen nicht nur in gewissen keimtötenden Flüssigkeiten (Karbol-, Essigsäure), sondern auch im Körper immuner Tiere (Henne, Taube) bedeutend länger am Leben bleiben, als unbekapselte Stäbchen aus einer Kultur desselben Stammes.

Hier kann wohl kaum die Rede davon sein, daß durch das bloß einige Stunden lange Verweilen in der Maus der Stoffwechsel der Keime eine solche Veränderung erlitten hätte, daß die erhöhte Resistenz diesem Umstande und nicht der Kapsel zuzuschreiben wäre. Denn solche im Tierkörper kapselig und widerstandsfähiger gewordene Milzbrandbacillen erzeugen auf Agar-Agar binnen einigen Stunden abermals nur solche ungekapselte und weniger resistente Generationen, wie die Ausgangskultur war. Es ist bloß der durch die Kapsel bedingte Gelegenheitszustand der Bacillen, welcher ihre erhöhte Resistenz verständlich macht. Hier kann wohl nicht von einem wesentlich veränderten Stoffwechsel, d. h. davon die Rede sein, daß der Bacillus im empfänglichen Organismus binnen einiger Stunden so tiefgehende Veränderungen erlitten hätte, wie durch Tage oder Wochen hindurch bei höheren Hitzegraden abgeschwächte Varietäten, deren so gewonnene neue, abgeänderte Eigentümlichkeiten sich auch auf ihre späteren Generationen vererben.

Die Virulenz der im Tierkörper in einigen Stunden bekapselt gewordenen Milzbrandstäbchen erscheint somit nicht in dem Sinne verändert, wie man sie bei den verschiedenartig abgeschwächten oder verstärkten Varietäten zu beurteilen pflegt.

Man könnte dieses Verhältnis zwar auch so ausdrücken, daß bekapselte Stäbchen eines Milzbrandstammes virulenter sind, als unbekapselte; denn wie ich bereits nachwies (diese Zeitschr. Bd. 49), lebte der bekapselte Bacillus im Huhn 6 Tage lang, während der kapsellose schon nach 2 Tagen zugrunde ging; ferner vermochte der bekapselte Bacillus auch durch Serum immunisierte Mäuse zu töten, der kapsellose dagegen nicht. Diese höhere Virulenz ist jedoch in diesem Falle nur die Folge eines Gelegenheitszustandes, nämlich dessen, daß dem Bacillus Zeit und Gelegenheit geboten war, vorher im Körper der normalen Maus Kapseln zu bilden. Im Körper des Huhnes oder immunisierter Mäuse sind die Verhältnisse der Kapselbildung sehr wenig günstig, weshalb die in solche Tiere schon bekapselt eingeführten Bacillen den unbekapselten gegenüber wesentlich im Vorteile sind. Sobald jedoch aus den bekapselten Bacillen auf Agar kapsellose Nachkommen wachsen, sind diese wieder nur so weit resistent, wie eben kapsellose zu sein pflegen.

Was ich hier auf Grund meiner Beobachtungen über die Schutzwirkung der Kapsel vom virulenten normalen Milzbrandbacillus in Kürze

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

anführte, stimmt vollkommen überein mit all dem, was ich über die Veränderung des Kapselbildungsvermögens abgeschwächter Varietäten, als vom Wesen der Virulenzabnahme bereits vor Jahren beobachtet und nun in dieser Arbeit beschrieben habe.

So wie normalvirulente Stäbchen eben nur durch die Erwerbung von Kapseln widerstandsfähiger, sagen wir virulenter werden, so ist auch die geringere und verschiedene Virulenz abgeschwächter Abarten durch die Veränderung der geschilderten Kapselbildungsverhältnisse allein befriedigend zu erklären.

Die qualitative Veränderung der Kapselbildung, wobei Kapseln rasch entstehen, aber auch rasch zerfließen, ferner die quantitative Veränderung, wobei die Kapseln weniger reichlich erzeugt werden als bei normalvirulenten Bacillen, machen die geringere Resistenz abgeschwächter Stämme im Tierkörper, d. h. ihre geringere Virulenz ohne weiteres verständlich.

Ueber Anlagen zur Variierung bei normalen Stämmen etc.

Als Serafini als erster die Kapseln der aus dem tierischen Körper stammenden Milzbrandbacillen nachgewiesen hatte, wurde das Vorhandensein solcher Kapseln in künstlichen Kulturen eine Zeitlang noch in Abrede gestellt. Später wurde jedoch die Kapselbildung auch in den Kulturen beobachtet. So fand Kern[1]), daß die Kapsel auch in den Kulturen ein integrierender Bestandteil des Milzbrandbacillus ist; auch Haase[2]) konnte aus Gelatinekulturen die Kapsel färberisch (Gentianaviolett, Essigsäure) nachweisen; nach Johne (zit. von Haase) sind Kapseln in den Kulturen selten. Noetzel[3]) konnte an Kulturbacillen Kapseln färben, nachdem er die Bacillen mit 1-proz. Kalilauge behandelte.

In einer früheren Arbeit[4]) hatte ich darauf hingewiesen, daß sich um Bacillen aus unseren gebräuchlichen Nährböden zwar auch Kapseln finden, jedoch nur ausnahmsweise, d. h. nur an verhältnismäßig wenigen Individuen und nicht von solchem Umfange wie bei den schleimigen Varietäten.

Seitdem ich zur Darstellung der Kapseln auch die Tuschemethode verwende, untersuchte ich abermals Agarkulturen verschiedener virulenter Stämme und fand stets bekapselte Stäbchen, wenn auch oft nur sehr vereinzelt. In solchen Präparaten zeigt sich die überwiegende Mehrzahl der Bacillen und ihre Verbände ohne eine Spur von Kapseln, nur hier und da treten einzelne Bacillen mit Kapseln auf. Die Kapseln können eine ganz beträchtliche Breite (1—3 Bac.-Durchmesser) erreichen, zuweilen sind sie so spärlich, daß man nach ihnen suchen muß; oft ist eben nur ein Glied oder ein kurzer Abschnitt eines langen Fadens bekapselt (s. Taf. II, Fig. 5).

Ich zweifle nicht, daß die bei Versuchen mit bakteriziden Stoffen (Serum, Desinficiens) den Massentod der sporenlosen Kulturbacillen erfahrungsgemäß oft lange überlebenden wenigen Exemplare eben solche

1) Diese Zeitschr. Bd. 22 u. 40.
2) Dtsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 20.
3) Fortschr. d. Med. Bd. 14.
4) Diese Zeitschr. Bd. 35 (s. Fig. 120).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bekapselte Keime sind. Auch dürfte es keine Täuschung sein, wenn ich annehme, daß es vornehmlich diese bekapselten Zellen sind, die bei der Verimpfung in den Tierkörper die übrigen überleben und somit die Infektion bewerkstelligen.

Nachdem ich mich überzeugt hatte, daß die Entstehung neuer Varietäten während des Abschwächungsprozesses mit Leichtigkeit in Erscheinung treten kann, stellte ich mir die Frage, ob nicht unter den günstigsten Verhältnissen gewachsene Kulturen normaler Milzbrandstämme bereits auch verschiedene Typen von Kolonieen aufweisen? Meine Beobachtungen lassen mich diese Frage entschieden bejahen.

In einer 2-tägigen Agarkultur einer meiner virulenten Stämme (A_1) konnte ich zweierlei Kolonieen unterscheiden, nämlich 1) grob gestrichelte mit rauher Oberfläche, bestehend aus Bacillen ohne Sporen, 2) kaum gestrichelte, weiße, glatte Kolonieen mit zahlreichen reifen Sporen. Aehnliche zweierlei Kolonieen wuchsen mir auch aus einem anderen virulenten Stamme (A_9). Aus einem dritten Stamme (A_{12}) gediehen folgende zwei Typen: 1) große, flache, grob gestrichelte Kolonieen mit rauher Oberfläche und aufgefaserten Rändern, bestehend aus langen Fäden mit nur vereinzelten Sporen; 2) fein gestrichelte, kleinere Kolonieen mit glatten Rändern und glatter Oberfläche, bestehend aus isolierten Bacillen (keinen Fäden) und zahlreichen Sporen; die Bacillen waren dicker als jene des Typus 1.

Insgesamt beobachtete ich bei 5 von 13 natürlichen Stämmen neben dem normalen Typus auch Kolonieen von abweichendem Charakter.

Zieht man außerdem noch in Betracht, daß in den Kulturen von normalen Milzbrandstämmen auch stets mehr oder weniger bekapselte Bacillen vorhanden zu sein pflegen, so muß man sich sagen, daß die augenfälligsten Charaktere der abgeschwächten Varietäten im Grunde genommen bereits bei normalvirulenten Stämmen anzutreffen sind, nämlich auch diese weisen zur Sporenbildung sehr wenig neigende Generationen und kapselbildende Individuen auf; und nach diesen beiden Richtungen hin äußert sich zum großen Teil das Variieren, indem die Generationen mancher Keime asporogen werden, andere wieder verschiedene schleimige Abarten erzeugen.

Ob das Kapselbildungsvermögen in der Phylogenese des Milzbrandbacillus eine im Schwunde oder im Gegenteil eine in fortschreitender Entwickelung begriffene Fähigkeit darstellt, darüber fiel es schwer, ein Urteil abzugeben. Allerdings ist es eine höchst auffällige Erscheinung, daß in langen Fäden und Verbänden von Bacillen, die also sämtlich aus einem einzigen Keim entstanden sind, oft eben nur ein einziger oder einige wenige Bacillen breite Kapseln erzeugen, während alle übrigen keine Spur einer Kapsel aufweisen. Das Kapselbildungsvermögen erscheint sonach bei manchen Zellen plötzlich, sprungweise, im Sinne der De Vriesschen Mutation zufolge innerer Ursachen.

Es darf wohl angenommen werden, daß die schleimigen Varietäten ihren Ursprung von jenen bekapselten Stäbchen haben, die in Kulturen normaler Stämme vereinzelt angetroffen werden. Ferner ist es zweifellos, daß im Laufe des Abschwächungsverfahrens nicht alle Keime zu schleimbildenden Varietäten werden; denn bei noch so lange fortgesetzter Abschwächung bei 42,5° C gibt es neben schleimigen Varietäten immer auch nicht-schleimige. Dann gibt es aber auch natürliche (normale)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stämme, die — wie ich bereits berichtete — während der Attenuation überhaupt keine schleimigen Abarten erzeugen.

Bemerkenswert ist, daß dasselbe Abschwächungsverfahren, welches zur Entstehung schleimiger Abarten führt, anderenteils auch solche Varietäten erzeugt, die ihr Kapselbildungsvermögen teilweise oder gänzlich eingebüßt haben; letzteres gibt sich kund, wenn solche Varietäten in geeignetes Serum oder in tierische Gewebe gebracht werden, wo sich das Kapselbildungsvermögen äußern kann.

Ich lasse mich hier nicht in Erörterungen ein, ob die Entstehung der am Milzbrandbacillus studierten Varietäten nach der Deszendenzlehre in den Bereich der fluktuierenden Variation oder eher in jenen der sprungweisen Mutation unterzubringen ist; dennoch scheint es mir, daß bei der Ausbildung dieser neuen Varietäten im Innern der Zellen obwaltende Ursachen, namentlich der individuell veränderte Stoffwechsel einzelner Zellen, eine sehr wichtige Rolle spielt, nicht aber eine Anpassung an veränderte äußere Verhältnisse. Daß gewisse individuelle Eigentümlichkeiten sprungweise erscheinen können, das läßt sich z. B. mit Agarkulturen normaler Stämme zeigen, wo in langen Zellverbänden oft eben nur ein einziger Bacillus bekapselt ist, während die übrigen nackt bleiben.

Ein solch abweichendes Verhalten einzelner Individuen ist vom Standpunkte der Deszendenzlehre um so bemerkenswerter, da die Bakterien sich doch nur durch Querteilung vermehren, und sonach jede junge Zelle aus der Hälfte einer älteren hervorgegangen ist. Alles andere, was bei höheren Lebewesen das Verständnis des Variierens kompliziert und erschwert, so namentlich die geschlechtliche Vermehrung, fällt hier weg.

Auch jener Umstand, daß im Laufe des Abschwächungverfahrens in ein und derselben Kultur unter ganz gleichen äußeren Bedingungen Varietäten von sehr verschiedenem Charakter entstehen, kann dafür sprechen, daß das Variieren den Zellen innewohnende, von äußeren Verhältnissen unabhängige Triebfedern hat, und daß das Variieren überhaupt eine durch die Kompliziertheit der biologischen Prozesse notwendig bedingte Eigenschaft lebender Wesen ist.

Damit möchte ich durchaus nicht den Einfluß äußerer Faktoren auf das Variieren geleugnet haben; denn es war ja eben die erhöhte Züchtungstemperatur, welche die schleimigen Varietäten entstehen machte, die ich bei 37° niemals entstehen sah.

Noch einige Worte über die Bedeutung, die ich dem am Milzbrandbacillus beobachteten Variieren bei der Beurteilung der Artcharaktere beimessen muß.

Die gänzlich oder fast ganz avirulenten schleimigen Varietäten des Milzbrandbacillus sind auch kulturell und morphologisch so weit verschieden vom virulenten normalen Bacillus, daß sie auch vom geübten Bakteriologen als mit letzterem nicht identische Arten angesprochen werden würden, falls er über ihre Abstammung keine Kenntnis besitzt. Tatsächlich sind im System der Bakterien sehr viele Arten voneinander auf Grund viel weniger augenfälliger Unterschiede getrennt, als es jene zwischen einem normalen und einem schleimigen Milzbrandstamm sind. Es ist bereits eine Reihe von Pseudoanthraxbacillen bekannt; alle aber sind dem echten, typischen Milzbrandbacillus um vieles ähnlicher, als die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schleimigen, auf Agar konfluierenden Varietäten des Milzbrandbacillus, die der Systematiker wohl nicht einmal als Pseudoanthraxbacillen akzeptieren würde; eher könnte man sie als nahe Verwandte der verschiedenen Kapselbakterien (Pneumobacillus, Rhinosclerombacillus etc.) ansprechen.

Nun drängt sich die Frage auf, ob denn ein ähnliches Variieren, wie man es bei Milzbrandkeimen in künstlichen Kulturen sieht, nicht auch in der freien Natur — wenngleich langsamer — vor sich gehen könne? Wie ich meine, hat man keine ernsten Gründe, diese Möglichkeit zu leugnen.

Hinsichtlich der Systemisierung mahnt dieses weitgehende Variieren der Milzbrandkeime zur Vorsicht bei der Feststellung der Artgrenzen. Es ist wahrscheinlich, daß die Anzahl der Bakterienarten sich vermindern wird, sobald man einen tieferen Einblick in ihr Variierungsvermögen gewonnen hat. Es ist nicht ausgeschlossen, daß derzeit als mehr oder minder noch verwandt geltende Arten durch geeignete Kulturverfahren einander ähnlicher werden können, oder daß z. B. die schleimigen, abgeschwächten Varietäten des Milzbrandbacillus wieder zu den Eigenschaften des normalen Typus zurückgeführt werden können; nur müßte man hierzu Wege ausfindig machen. Zurzeit aber hat man hierüber noch sehr wenig Erfahrung. So leicht es ist, aus normal virulenten Stämmen avirulente und schleimige Varietäten zu züchten, ebenso wenig gelingt es, diesen die Eigenschaften des Urstammes wieder zurückzuerwerben. So blieb mir ein avirulent gemachter Stamm trotz unzähliger Fortimpfungen auf Agar bei 37° avirulent und unfähig zur Kapselbildung; eine andere, dünnschleimige Varietät aber beharrte bei ihrem Charakter, ohne sich wieder dem Urstamm zu nähern, trotz der Passage durch 80 Mäuse.

Bemerkungen zu einschlägigen Literaturangaben.

In der älteren Literatur findet man über Eigentümlichkeiten abgeschwächter Milzbrandstäbchen nur sehr spärliche Beobachtungen verzeichnet.

So erwähnen schon Pasteur, Roux und Chamberland[1]), daß der avirulente Bacillus sich morphologisch nur unbedeutend vom virulenten unterscheidet, insoforn seine Kulturen in Bouillon weniger reichlich sind, eher eine gleichmäßige Trübung verursachen, nicht aber wollige Flöckchen bilden; denn die Bacillen wachsen nicht in langen, wirren Fäden, wie beim normalen. Doch wird behauptet, daß, wenn aus den Sporen des abgeschwächten Bacillus sich eine neue Kultur entwickelt, diese wieder dem virulenten Bacillus ähnlich wachsen soll. Diesen letzteren Befund der verdienstvollen französischen Forscher konnte ich nicht bestätigen. Sie haben seinerzeit mit Bouillonkulturen des abgeschwächten Milzbrandbacillus gearbeitet, die gewiß eine ganze Reihe der abgeschwächten Varietäten enthielten, so wie ich es später fand, und so konnte es leicht geschehen, daß in der einen Kultur die sich atypisch entwickelnden Abarten im Uebergewicht waren, während die aus dieser übertragenen Sporen gerade aus einer weniger atypisch wachsenden Varietät stammend, eine der normalen ähnliche Kultur ergeben konnten. Dies ist um so wahrscheinlicher, als ich die Rückkehr sorgfältig isolierter

1) Comptes rendus. T. 188.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einzelner Varietäten zum normalen Typus der Kultur trotz zahlreicher Fortimpfungen niemals beobachten konnte.

Nach Gamaleïa[1]) ist der abgeschwächte Milzbrandbacillus dünner, als der virulente, und zwar je nach dem Maße seiner Abschwächung; die Bacillen des Impfstoffes No. I sind $^1/_2$mal, die des Impfstoffes II $^2/_3$mal dünner als der virulente Bacillus. Auch Sobernheim[2]) fand, daß die Bacillen des Pasteurschen abgeschwächten Virus dünner sind, geringe Neigung zur Fadenbildung bekunden, in Bouillon keine wollartigen Flocken, sondern gleichmäßige Trübung verursachen, Gelatine kaum verflüssigen und darin keine lockenartigen Fortsätze nach der Peripherie aussenden.

Auf Grund eigener Beobachtungen kann ich behaupten, daß der abgeschwächte Milzbrandbacillus nicht immer dünner ist, ja er kann sogar dicker sein, als der virulente.

Gelegentlich der Untersuchung verschiedener, auf ganz gleichem Agar gewachsener Varietäten nach der Tuschemethode habe ich folgendes gefunden: Die dicksten Bacillen einer virulenten Kultur hatten einen Durchmesser von 1,25 μ; die Maße einer stark abgeschwächten (avirulenten) schleimigen Varietät waren dieselben, selbstverständlich ohne die Kapseln. Die dicksten Bacillen einer anderen abgeschwächten schleimigen Varietät (aus Pasteurschem Impfstoff I) waren noch breiter, und endlich erreichte ein großer Teil der Bacillen eines vollkommen avirulenten Stammes 2,0 μ.

Sobernheim sagt von seinem eigenen Milzbrandimpfstoff, daß dieser auf gewöhnlichen Nährböden vom virulenten nicht zu unterscheiden war, wenn nicht dadurch, daß er sich schwächer und langsamer entwickelte und Gelatine langsamer verflüssigte; im übrigen sei er der Gestalt der Kultur und dem mikroskopischen Bilde nach vom virulenten nicht zu unterscheiden. Die abweichenden Beobachtungen, die Sobernheim einesteils mit dem Pasteurschen, anderenteils mit seinem eigenen Impfstoff machte, lassen sich auf Grund meiner Untersuchungen leicht erklären. Denn einmal entstehen — wie ich gezeigt habe — während des Abschwächungsprozesses die allerverschiedensten, vom Normalen wesentlich abweichenden Abarten, ein anderes Mal hingegen erhält man vom virulenten Bacillus morphologisch und kulturell kaum verschiedene abgeschwächte Varietäten. In letztere Kategorie gehören wohl auch Sobernheims abgeschwächte Kulturen.

Daß die französischen Forscher im Impfstoff des Pasteurschen Institutes die so sehr auffallenden schleimigen Abarten nicht erkannten, die ich in dieser Arbeit beschrieb, bin ich geneigt, dadurch zu erklären, daß die Schule Pasteurs, besonders in früherer Zeit, mit flüssigen Nährstoffen arbeitete, die bekanntlich zum Isolieren von Varietäten nicht geeignet sind.

Was die biochemischen Veränderungen des abgeschwächten Milzbrandbacillus betrifft, so ist zu erwähnen, daß der normale Bacillus nach Gamaleïa[3]) Milch gerinnen macht und mehr Milchsäure erzeugt, als der abgeschwächte.

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1888.
2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25.
3) l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auch v. Behring[1]) hat gefunden, daß der virulente Milzbrandbacillus mehr Säure bildet, als der abgeschwächte. Nachdem v. Behring das Blut der gegen Milzbrand wenig empfänglichen Ratten stark alkalisch befand und nachdem man ferner nach Fodor[2]) Kaninchen durch Verabreichung von Alkalien gegen Milzbrand widerstandsfähiger machen kann, erschien die Behauptung annehmbar, daß der virulente Bacillus dem avirulenten gegenüber seine größere Pathogenität seiner bedeutenderen Säureproduktion verdanke. — Es hat jedoch der Znsammenhang zwischen dem Grad der Säurebildung und dem der Virulenz keine Bestätigung erhalten. — In einer früheren Arbeit (dieses Centralbl. Orig. Bd. 49) habe ich meine Versuche erwähnt, welche zeigten, daß avirulente Stämme, auch mit Milchsäure verabreicht, nicht fähig waren, selbst nur Mäuse zu töten. Ebensowenig kann man behaupten, und nach meinen Untersuchungen ist es auch gar nicht wahrscheinlich, daß andere, zwischen dem virulenten und abgeschwächten Bacillus beobachtete biochemische Unterschiede die Ursache der Virulenzverschiedenheit bilden. Solche Unterschiede wären die auf die Zersetzung von Glyzerin, Fett, Zucker und Stärke, sowie die auf die Peptonisierung von Eiweiß und die Produktion von H_2S bezüglichen (Andrejew)[3]).

Endlich möchte ich noch auf einige Arbeiten hinweisen, wo die betreffenden Forscher meiner entschiedenen Ansicht nach zu Trugschlüssen gelangten, weil sie zu ihren Versuchen nicht virulente, sondern abgegeschwächte Kulturen verwendeten.

Danysz[4]) züchtete Milzbrandbacillen in Bouillon, welcher er allmählich mehr und mehr Rattenserum bzw. Arsentrioxyd hinzusetzte, um die Bacillen an diese Stoffe zu gewöhnen, d. h. sie gegen diese Stoffe zu immunisieren. Die auf diese Weise gegen Rattenserum immunisierten Bacillen wuchsen nach Danysz auf Agar in glanzlosen, rauhen, dem normalen Milzbrand nicht unähnlichen Kolonieen, deren Bacillen jedoch von Kapseln umgeben waren; die Kapseln hatten die Breite eines halben Bacillenkörpers. Die an Arsen gewöhnten Bacillen gaben auf Agar dicke, schleimige, hinabfließende Kolonieen, bestehend aus Bacillen mit breiten Kapseln. Nach Danysz sollen die bekapselten Bacillen zufolge der genannten Immunisierung entstanden sein und soll die Kapselbildung eine Schutzvorrichtung gegen jene schädlichen Stoffe darstellen.

Nun bediente sich aber Danysz bei diesen Versuchen nicht normaler, virulenter Bacillen, sondern Pasteurscher Vaccins, von denen ich nachgewiesen habe, daß sie die allerverschiedensten Varietäten enthalten können, namentlich auch solche schleimige, wie sie Danysz aus seinen Rattenserum- und Arsen-Bouillonkulturen züchtete. Ich bin sonach genötigt, die Versuchsergebnisse von Danysz mit ganz anderen Augen zu betrachten und so zu deuten, daß in seinen Serum- und Arsenkulturen die unbekapselten Varietäten in den Hintergrund getreten oder auch gänzlich ausgestorben sind, während gewisse kapselbildende, schleimige Varietäten überwucherten oder allein am Leben blieben; letztere waren es, die Danysz in seinen immunisierten Kulturen vorfand.

1) Zeitschr. f. Hyg. 1889.
2) Diese Zeitschr. Bd. 17.
3) Petersb. Arch. f. Veter.-Wiss. 1898.
4) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1900.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Jene Varietät, die er aus seinen Rattenserumkulturen erhielt, entspricht den Abarten, die ich aus Pasteurschen Impfstoffen isolierte und als fest-schleimige (var. striato-mucosa) bezeichnete; die aus seinen Arsenkulturen stammende Abart aber ist identisch mit den dünnschleimigen, abgeschwächten Abarten (var. muc. confluens). Ich will hier nicht in Abrede stellen, daß in Rattenserum oder Arsen enthaltenden Nährböden schleimige Varietäten entstehen können; solange aber die Danyszschen Versuche nicht auch mit normal-virulenten Bacillen dieselben Resultate ergeben, so lange halte ich nur die soeben gegebene Deutung zutreffend.

Daß übrigens die Entstehung bekapselter Varietäten nicht als eine Erscheinung der Abwehr gegen schädliche Stoffe aufgefaßt werden muß, erhellt daraus, daß die verschiedensten schleimigen Varietäten während der Züchtung bei 42,5° auch in zusagenden Nährböden entstehen.

In einer früheren Arbeit[1]) habe ich bereits darauf hingewiesen, wie es in betreff der Wirkungsweise des Milzbrandimmunserums gleichfalls zu Trugschlüssen führte, daß die Versuchstiere nicht mit virulenten Bacillen, sondern mit abgeschwächten Impfstoffen infiziert wurden.

Zusammenfassung.

Werden virulente Stämme von Milzbrandbacillen durch Züchtung bei 42,5° C abgeschwächt, so kann in ein und derselben Kultur eine Reihe von Varietäten entstehen, die sowohl kulturell und mikroskopisch, wie hinsichtlich ihrer Virulenz voneinander sehr verschieden sind. Am meisten abweichend vom Charakter normaler Milzbrandstäbchen sind jene Varietäten, die auf Agar dünnschleimige, zusammen- und abfließende Kolonieen bilden.

Das Wesen der Abschwächung besteht beim Milzbrandbacillus in der Abänderung der Kapselbildungsfähigkeit.

Durch das Abschwächungsverfahren erleidet das Kapselbildungsvermögen der Stäbchen entweder eine qualitative oder eine quantitative Veränderung.

Die qualitative Veränderung äußert sich darin, daß bereits auf Agar mehr oder minder reichliche, feste oder weiche, langsam oder rasch zerfließende Kapseln gebildet werden. Je fester und dauerhafter die Kapseln, um so resistenter und virulenter ist die Varietät; je weicher und je rascher zerfließend die Kapseln, desto geringer ist die Virulenz. Ganz dünnschleimige, rasch zerfließende Kapseln bildende Varietäten sind zuweilen auch für Mäuse nicht mehr virulent.

Die quantitative Veränderung des Kapselbildungsvermögens äußert sich dadurch, daß solch abgeschwächte Varietäten dem Grade ihrer Abschwächung entsprechend in empfänglichen Tieren, oder in tierischen Säften weniger reichliche Kapseln erzeugen, als unabgeschwächte Stäbchen desselben Stammes. Avirulente Varietäten bilden unter solchen Umständen gar keine, oder fast gar keine Kapseln mehr.

---

1) Diese Zeitschr. Bd. 49.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ein und dieselbe abgeschwächte Kultur kann noch hochvirulente und gänzlich avirulente Varietäten nebeneinander enthalten.

Virulenz und Sporulation nehmen während der Abschwächung nicht parallel ab; es können eben virulentere Varietäten asporogen werden, avirulente Varietäten dagegen reichlich Sporen bilden.

Um Milzbrandimpfstoffe von möglichst gleichmäßiger und konstanter Virulenz zu erhalten, ist es notwendig, mit reingezüchteten Varietäten zu arbeiten.

Bei verschiedenen Urstämmen verläuft die Abschwächung bis zu einem gewissen Grade trotz gleicher Bedingungen nicht in gleichen Zeiträumen.

Nicht jeder Urstamm erzeugt während des Abschwächungsverfahrens schleimige Varietäten.

Aus reingezüchteten abgeschwächten Varietäten können im Tierkörper oder in der Kultur (bei nicht über 37° C) abermals abweichende Varietäten hervorgehen.

Die schleimigen Varietäten dürften aus solchen bekapselten Individuen hervorgehen, die in Kulturen normaler Milzbrandstämme mehr oder minder zahlreich anzutreffen, und besonders gut mit der Tuschemethode nachzuweisen sind.

Auch Urstämme von Milzbrandbacillen weisen auf Agar zuweilen verschiedene Typen von Kolonieen auf.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

Fig. 1—5. Aus einem II. Pasteurschen Impfstoff isolierte Varietät, die auf Agar zwar gestrichelte Kolonieen bildet, jedoch Kapseln erzeugt (Varietät No. 5 in den Tabellen I—IV des Textes).

Fig. 1. Aus der eintägigen Agarkultur.

Fig. 2. Aus der dreitägigen Agarkultur.

Fig. 3—5. Aus der Impftasche einer Maus entnommen 4, 26 und 34 Stunden nach der Impfung mit der eintägigen Agarkultur. Die Maus ging 40 Stunden nach der Impfung ein.

Fig. 6—10. Aus einem I. Pasteurschen Impfstoff isolierte Varietät, die auf Agar dünnschleimige, zusammen- und abfließende Kolonieen bildet (Varietät No. 4 der Tabellen I—IV des Textes).

Fig. 6. Aus der eintägigen Agarkultur.

Fig. 7. Aus der zweitägigen Agarkultur.

Fig. 8—10. Aus der Impftasche einer Maus entnommen 3, 28 und 33 Stunden nach der Impfung mit der eintägigen Agarkultur. Die Maus ging etwa 65 Stunden nach der Impfung ein.

Färbung der Präparate mit Anilinwasser-Gentiana und rasche Entfärbung mit $^1/_2$—1-proz. Essigsäure. Einbettung in Wasser.

Tafel II.

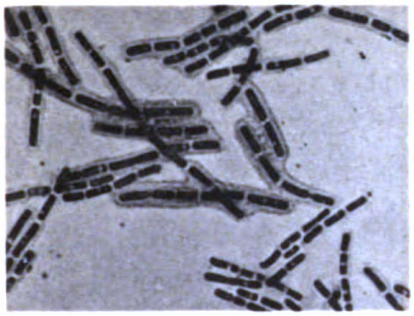
Fig. 1. Eintägige Kolonieen eines normal-virulenten Milzbrandstammes auf Agar, in durchfallendem Licht, auf dunklem Grunde (1 : 10).

Fig. 2. Eintägige Kultur einer schleimigen Varietät aus Pasteurschem I. Impfstoff. Teils fein gestrichelte, teils homogene Kolonieen, jedoch sämtlich rund und mit glatten Rändern (1 : 10).

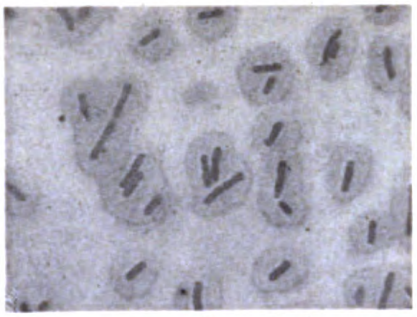
Fig. 3. Agarkolonieen verschiedenen Charakters (grob und fein gestrichelt, glatte und aufgefaserte Ränder) eines avirulenten Stammes (1 : 10).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

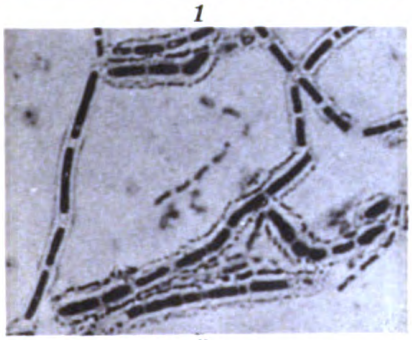
Preisz, Milzbrandbazillus



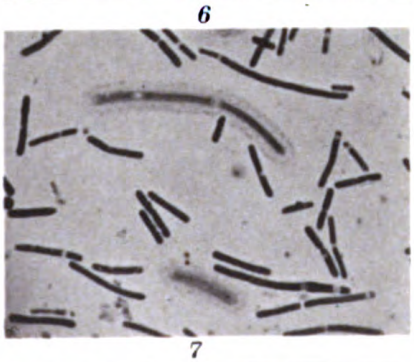
1



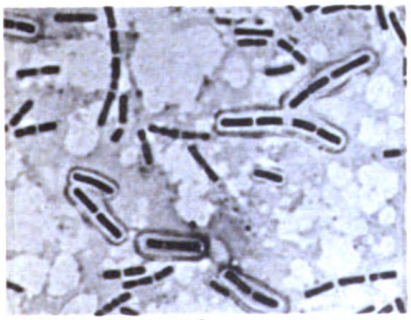
6



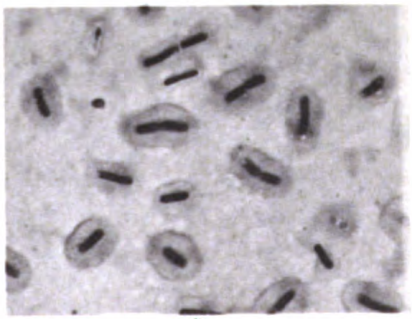
2



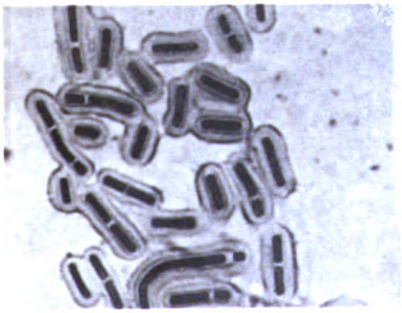
7



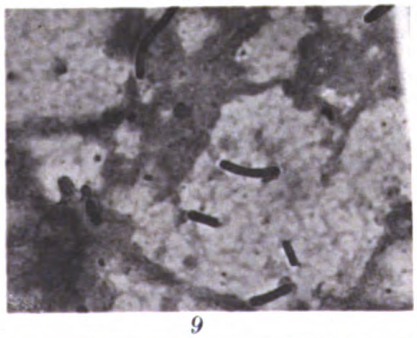
3



8

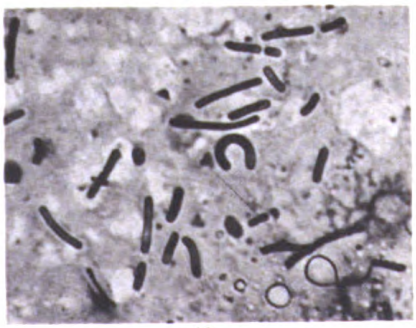


4



9

5



10

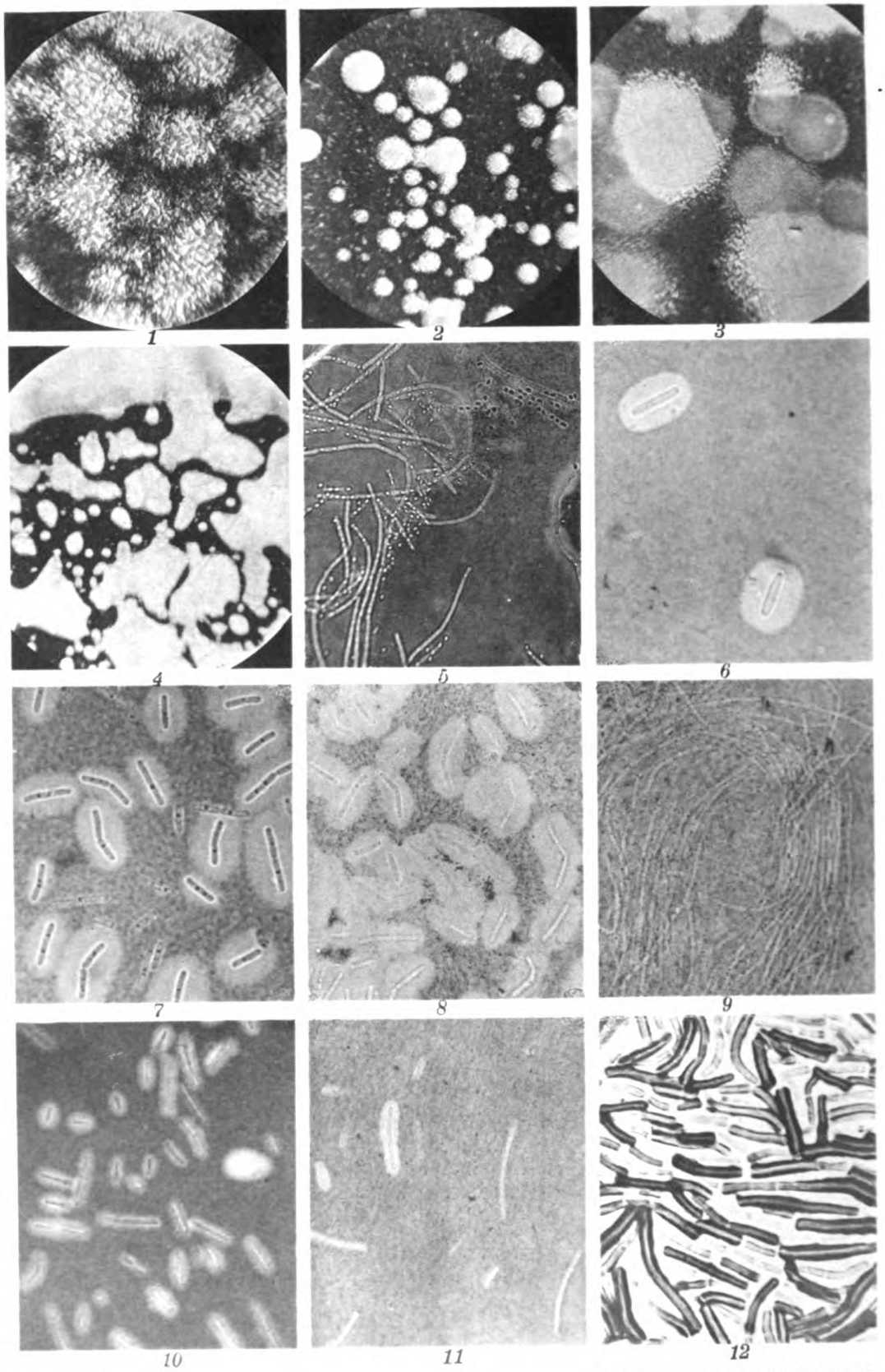
Preisz photogr. J. B. Obernetter, München, reprod.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Preisz photogr.

J. B. Obernetter, München, reprod.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fig. 4. Eintägige Agarkultur einer dünnschleimigen Varietät aus Pasteurschem I. Impfstoff. Konfluierende Kolonieen (1 : 10).

Fig. 5. Normal-virulente Milzbrandstäbchen aus einer zweitägigen Agarkultur in Tusche; rechts ein bekapselter Bacillenverband (etwa 1 : 700).

Fig. 6. Normal-virulente Milzbrandbacillen, nachdem sie 24 Stunden in der Unterhaut einer Maus verweilt hatten, in Tusche untersucht (1 : 1000).

Fig. 7. Bacillen einer dünnschleimigen Varietät aus einer eintägigen Agarkultur (der in Fig. 4 abgebildeten) in Tusche (1 : 1000).

Fig. 8. Normale Milzbrandstäbchen (derselbe Stamm, wie bei Fig. 1, 5 und 6), nachdem sie 24 Stunden in inaktiviertem (60°) Pferdeserum verweilten, in Tusche (1 : 1000).

Fig. 9. Bacillen desselben Stammes nach einer 40-tägigen Abschwächung bei 42,5° und gleichfalls 24 Stunden in inaktivem Pferdeserum gehalten, in Tusche untersucht (1 : 1000).

Fig. 10. Normale Bacillen nach $6^1/_2$-stündigem Verweilen in der Unterhaut einer Maus, in Tusche (etwa 1 : 700).

Fig. 11. 40 Tage lang abgeschwächte Bacillen (Urstamm wie bei Fig. 9) nach $6^1/_2$-stündigem Verweilen in der Maus, in Tusche (etwa 1 : 700).

Fig. 12. Schleimige Varietät aus Pasteurschem I. Impfstoff; Bacillen der 6 Tage alten Agarkultur; Dahliafärbung, dann mit Ammoniumsulfid behandelt; Kapseln dunkel gefärbt, Bacillenkörper ungefärbt (1 : 1000).

Nachdruck verboten.

Sur un Piroplasma d'Erinaceus algirus[1]).

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Avec 1 figure.

Au mois de janvier 1911 Mr. A. Weiss, m'a envoyé de Houmt-Souk (Ile de Djerba, Tunisie), quelques frottis de sang et de pus d'un Erinaceus algirus, capturé en novembre 1910. Après coloration au Giemsa, j'ai constaté dans les globules rouges et libres, des hémosporidies, présentant les caractères suivants:

a) Dans les hématies:

1° Formes en anneau de 1—1,5—2 μ, faiblement colorées en azur sur les bords, à espace central blanc, pourvues d'un karyosome fortement coloré en rouge et occupant une partie de la périphérie de l'anneau. Chaque hématie contient, dans la majorité des cas, une seule de ces formes, mais parfois il y en a 2 ou 3, et parfois ces formes sont associées dans la même hématie à la forme suivante.

2° Formes en poire de 1,5—2 μ, parfois uniformement colorées en azur, le plus souvent avec une tache blanche dans la partie en massue et pourvues d'un karyosome, parfois divisé en 2 granulations, le plus souvent coiffant presque l'extrémité enflée. Ces formes sont aussi le plus souvent isolées dans une hématie, mais parfois il y en a 2 rapprochées par leur extrémité plus mince, absolument comme P. bigeminum et P. canis. Dans quelques hématies, elles sont associées aux formes en anneau.

3° Formes en poire comme les précédentes, mais dont l'extrémité plus mince est prolongée par un petit trait azur, dans lequel on

1) Une courte communication préalable a été faite par moi à la Soc. Vaudoise des scienc. natur., Séance du 1er février 1911.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

remarque des granulations rouges. Ces formes sont extrêmement rares.

b) Libres.

4° Formes allongées, ovoïdes, parfois légèrement courbées en haricot, quelques unes avec 2 masses de chromatine isolées dans la masse uniformement colorée en azur du protoplasma. Ces formes, plutôt rares, semblent représenter des gamètes.

Leitz Oc. comp. 18, ob. imm. hom. 2 mm, tube 170 mm ch. claire.

Dans aucune de ces différentes formes, j'ai constaté la présence de pigment. Les formes 1 et 2, je les ai trouvées dans les frottis du sang et dans les globules rouges des frottis du pus. Les formes 3 et 4, exclusivement dans les frottis du sang.

Dans certaines préparations, les hémosporidies étaient assez fréquentes. Dans un champ de microscope, on pouvait trouver 3—4 hématies infectées.

Dans les frottis du sang, il y avait beaucoup d'hématies se colorant en bleu et beaucoup de globules blancs.

Les hémosporidies que je viens de décrire chez E. algirus, doivent certainement être rapportées au genre Piroplasma. Constituent-elles une nouvelle espèce, ou bien sont-elles identiques à P. ninense décrit en 1909 par W. L. Yakimoff[1]) chez E. europaeus du gouvernement de Saratow (Russie)? Bien que Yakimoff dise de ne pas avoir vu de véritables formes en poire dans les cas qu'il a examiné, tandis que moi j'en ai trouvé de très caractéristiques, la comparaison de mes préparations avec les figures données par Yakimoff, me porte à considérer les 2 formes comme identiques. Si pourtant, des observations ultérieures, devaient séparer ces 2 hémosporidies, je proposerais pour celle décrite par moi, le nom de Piroplasma Weissi, la dédiant à Mr. A. Weiss, naturaliste à Djerba, qui m'a fourni le matériel pour mes recherches.

Suivant Yakimoff, P. ninense serait transmis par les nymphes de Dermacentor reticulatus. Jusqu'à maintenant, je n'ai pas eu cette espèce de Djerba, mais des nymphes récoltées dans cette île sur E. algirus par Mr. Weiss, nymphes que j'ai soumis à l'examen de Mr. le Prof. Neumann, ont été par ce dernier considérées comme se rapportant, fort probablement à Amblyomma variegatum Fabr.[2]).

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 52. p. 472.

2) Dernièrement j'ai reçu des ixodes récoltées sur le hérisson à Djerba. Il s'agit, d'après Mr le Prof. Neumann de Rhipicephalus sanguineus Lotz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Conclusions.

1° Chez E. algirus de l'Ile de Djerba on rencontre une hémosporidie du genre Piroplasma.

2° Ce Piroplasma est probablement identique à P. ninense d'E. europaeus de Russie. S'il devait en être séparé, je proposerais pour lui le nom de P. Weissi.

Lausanne, 3 février 1911.

Nachdruck verboten.

Ueber Ascaris mystax R. beim Menschen.

Von Dr. **Herrmann Schöppler.**

Morton[1]) glaubte schon vor 45 Jahren, darauf hinweisen zu müssen, daß das Vorkommen des Katzenspulwurmes beim Menschen ein häufigeres sein müsse, als allgemein angenommen werde.

Bereits im Jahre 1908 habe ich[2]) dann die in der Literatur beschriebenen Fälle von Ascaris mystax beim Menschen zusammengestellt und den bekannten Fällen einen anderen Fall hinzufügen können.

Die Untersuchung der mit dem Stuhl von selbst oder durch medikamentösen Eingriff abgegangenen Parasiten wird in zweifelhaften Fällen Klarheit über die Art derselben bringen, und ich zweifle nicht, daß, wenn von seiten der praktischen Aerzte, denen in erster Linie hier weit mehr Gelegenheit zur Beobachtung gegeben ist, als Kliniken, pathologischen Instituten etc. solchen nicht der gewöhnlichen Art der Ascariden gleichkommenden Parasitenformen vermehrte Aufmerksamkeit geschenkt wird, die Zahl der Fälle von Ascaris mystax beim Menschen sich sicherlich in der Literatur weiter mehren wird.

Seit meiner Veröffentlichung sind mir nun bereits von 2 Seiten Mitteilungen darüber zugegangen, daß der Katzenspulwurm beim Menschen beobachtet werden konnte. Der eine Fall betraf ein 8 Monate altes Kind, von welchem 19 Stück Ascariden erbrochen wurden. Bei näherer Untersuchung durch den Dozenten an der Universität Budapest, Herrn Entz Gèza jun.[3]) wurden sie als typische Exemplare des Katzenspulwurmes erkannt. Die Weibchen waren höchstens 9 cm, die Männchen 4—5 cm lang.

Der 2. Fall konnte in Tutzing beobachtet werden, und wird derselbe, soweit ich unterrichtet bin, in der nächsten Zeit seine ausführliche Beschreibung erfahren.

---

1) Morton, T., Ascaris mystax. (The Lancet. 1865. Vol. 1.)

2) Schöppler, H., Ueber das Vorkommen von Ascaris mystax R. beim Menschen, nebst einem Casuistischen Beitrage. (Wien. klin. Rundsch. 1908.)

3) Sitzungsber. d. Fachsekt. f. Zoologie d. Königl. Ungar. Naturwiss. Ges. Mathem. naturwiss. Ber. a. Ungarn. Bd. 24. 1906. p. 370 und persönliche Mitteilung des Herrn Dozenten.

Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Im März d. J. wurde ich wegen einer Wurmerkrankung eines 3-jährigen Kindes H. K. militärärztlich gerufen. Die mir vorgezeigten von selbst bei dem Kinde mit dem Stuhl abgegangenen Würmer waren durch den Aufbewahrungsort, welchen die Eltern verwendeten (einfache Papierumhüllung, in der die Wurmexemplare bereits über 24 Stunden gelagert waren) so verdorben, daß ich zunächst nur feststellen konnte, daß es sich um eine Ascaridenerkrankung handelte. Einen besonders ungünstigen Einfluß auf den allgemeinen Kräftezustand des Kindes hatten die Parasiten anscheinend nicht ausgeübt, nur war die Gesichtsfarbe des Knaben bleich. Das Kind war stets bei Appetit, nicht verdrießlich, hatte keine Klagen, nach Ansicht der Eltern keinen Juckreiz in der Aftergegend. Wären die abgegangenen Parasiten nicht im Stuhl durch Zufall von den Eltern gesehen worden, so würde deren Vorhandensein wohl durch kein krankhaftes Symptom von Seite des Kindes bemerkt worden sein. Ich ließ mir nun den Stuhl des Kindes aufheben und konnte am folgenden Tage 5 Stück kleine Spulwürmer aus dem Stuhl gewinnen, die mir sofort als denen ähnlich auffielen, die ich seinerzeit in München zur Untersuchung bekam.

Die mikroskopische Untersuchung der Parasiten ließ keinen Zweifel obwalten, daß es sich um Ascaris mystax R. handelte. Die flügelförmige Verbreiterung am Kopfteile, die Lippenstellung, die Form des Hinterrandes, die Längenmaße, alle diese Besonderheiten ließen die Bestimmung der Art der Parasiten nicht allzu schwer fallen. Durch Verabreichung von Santonin konnten noch 16 Stück dieser Parasitenart zutage gefördert werden. Weitere Mengen kamen nicht mehr zur Beobachtung, auch ließen sich im Stuhl keine Eier von Ascaris mystax auffinden. Auch jetzt, wo ich diesen Fall zur Veröffentlichung bringe, ist, wie ich mich überzeugen konnte, eine weitere Infektion von Ascaris mystax nicht mehr erfolgt.

Wo war nun die Ansteckungsquelle zu suchen? Im Hause war ein kleiner rasseloser Hund. Auf ihn fiel sofort mein Verdacht, nachdem ja bekannt ist, daß auch Hunde die Träger des Katzenspulwurmes sein können. Die von mir untersuchten Faeces bestätigten meine Vermutung und ließen das Tier als die Infektionsquelle erkennen. Durch Kamalagaben wurde auch das Tier bald von den Parasiten befreit.

Vorstehende Mitteilung soll dazu beitragen, die von Morton und mir ausgesprochene Ansicht, daß Ascaris mystax in seinem Vorkommen beim Menschen keineswegs so außerordentlich selten ist, als für gewöhnlich angenommen wird, weiter zu bestätigen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Experimentelle Beiträge zum Studium des Mechanismus der Immunkörper- und Komplementwirkung.

[Aus dem Königl. Hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

II. Mitteilung[1]).

Von Prof. Dr. **R. Scheller** und Dr. **B. Goldschmidt.**

In einer früheren Mitteilung hat der eine von uns[2]) Befunde mitgeteilt, nach welchen der Schluß berechtigt erscheint, daß das Komplement nicht nach seiner absoluten Menge, sondern einzig allein nach seiner Konzentration wirkt; diese Gesetzmäßigkeit geht so weit, daß die Komplementwirkung auch gänzlich unabhängig ist von der Menge der sensibilisierten Blutkörperchen, welche komplettiert werden sollen; nur das Mengenverhältnis, in welchem hämolytische Immunkörper und rote Blutkörperchen zueinander stehen, spielt eine Rolle.

Diese Befunde stehen im Gegensatz zu der Anschauung von Ehrlich und Morgenroth.

Vieles spricht vielmehr dafür, daß das Komplement die Rolle eines Katalysators hat.

Die gewonnenen Resultate stehen im Einklang mit den früheren interessanten Arbeiten von Kiss, welcher auf anderem Wege zu ähnlichen Anschauungen gekommen war.

In dieser nunmehr folgenden Mitteilung sollen Versuche besprochen werden, welche sich mit dem Mengenverhältnis von Immunkörper und Komplement beschäftigen.

Zunächst wollen wir feststellen, ob bezw. wie die zur Lösung notwendige Minimaldosis von Immunkörper variiert, je nachdem wir verschiedenes Meerschweinchenkomplement anwenden.

Es ist nach den Mitteilungen von Ehrlich und Morgenroth bekannt, daß die Wirkung des Immunkörpers wechselt, wenn als Komplemente die Sera verschiedener Tierarten verwendet werden.

Des ferneren steht es durch Untersuchungen von v. Dungern, Gruber, Morgenroth und Sachs fest, daß, je größere Immunkörperdosen wir für den hämolytischen Versuch anwenden, wir um so geringere Komplementdosen zur Komplettierung brauchen, und daß umgekehrt, je mehr Komplement wir verwenden, um so besser die Wirkung des Immunkörpers ist.

Da verschiedene Meerschweinchensera einen verschieden großen Komplementgehalt haben, so ist a priori anzunehmen, daß je nach dem gerade angewandten Meerschweinchenserum der Immunkörpertiter ein und desselben hämolytischen Serums Schwankungen ausgesetzt ist.

Aus diesem Grunde wohl bestimmt Morgenroth zunächst durch ein hämolytisches Standardserum die optimale Komplementdosis, mit

---

1) Die Resultate dieser Mitteilung sind von R. Scheller auf der Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Königsberg September 1910 vorgetragen worden.

2) Scheller, R., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. Heft 2.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

welcher sodann erst der zu prüfende hämolytische Immunkörper austitriert wird.

Aus demselben Grunde wird auch bei der Serodiagnose der Syphilis jedesmal die lösende Minimaldosis des hämolytischen Immunserums mit dem jeweiligen Komplement im Vorversuch bestimmt.

Diese Hinweise verschiedener Autoren über die variierte Wirkung des Immunkörpers bei verschiedenem Meerschweinchenkomplement ließen es uns lohnend erscheinen, diese Frage durch systematische Untersuchungen zu bearbeiten.

Zunächst wollten wir feststellen, innerhalb welcher Grenzen der Immunkörpertiter bei gleicher Komplementkonzentration schwanken kann, wenn verschiedene Meerschweinchensera zur Komplettierung benutzt werden.

Gleichzeitig ist es wohl von Interesse, zu untersuchen, ob ein und dasselbe Komplement den Titer verschiedener für dieselbe Blutart spezifischer Immunsera gleichnamig beeinflußt, d. h. ob z. B. bei Verwendung eines bestimmten Komplementes die Wirkung jedes Immunkörpers eine Steigerung erfährt, oder ob bei Benutzung eines anderen Komplementes verschiedene Immunkörper durchweg schlechtere Wirkung aufweisen.

(Wie in den Versuchen der I. Mitteilung, wurden als Immunkörper hammelblutlösende Kaninchenimmunsera, als Komplement frische Meerschweinchensera verwandt; die Hammelblutkörperchensuspension (10-proz. berechnet auf das ursprüngliche Blutvolumen) wurde ebenfalls in gleicher Weise, wie dort beschrieben, hergestellt.)

Tabelle I.

Für je 0,1 ccm Komplement von 4 verschiedenen Meerschweinchen (die Komplementkonzentration im Versuche, der ein Gesamtvolumen von 3 ccm hat, ist also 1 : 30) werden die gerade noch vollständig lösenden Minimaldosen den hammelblutlösenden Kaninchenimmunsera 140, 179, 175, 173 bestimmt. Die Zahlen der Tabelle drücken die gefundenen Immunkörperdosen in Kubikzentimetern aus.

	Kompl. I	Kompl. II	Kompl. III	Kompl. IV
Immunkörper 140	1 : 5000	1 : 5000	1 : 5000	1 : 5000
„ 179	1 : 12 000	1 : 10 000	1 : 10 000	1 : 10 000
„ 175	1 : 3000	1 : 1500	1 : 2000	1 : 2000
„ 173	1 : 600	löst überhaupt nicht vollständig	1 : 500	1 : 300

Tabelle I zeigt uns, daß tatsächlich der Titer ein und desselben Immunkörpers bei Anwendung einer gleichen Konzentration verschiedener Meerschweinchenkomplemente erheblich schwanken kann, anderseits sehen wir, daß bei verschiedenen Immunkörpern diese Schwankungen verschieden groß sind, ja daß sie bei einzelnen Immunkörpern gänzlich ausbleiben können, obzwar Komplemente angewandt werden, die den Titer anderer Immunkörper variieren.

Es hat den Anschein, als ob hochwertige Immunsera den erwähnten Schwankungen ihres Titers weniger ausgesetzt sind als niederwertige, bei welchen es sogar vorkommen kann, daß, wie in Tabelle I der Fall des Immunkörpers 173 mit Komplement II zeigt, bei gewissen Komplementen überhaupt keine vollständige Lösung zustande kommt.

Wir sehen also, daß ein für ein bestimmtes Immunserum nicht

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

günstig wirkendes Komplement für ein anderes Serum normale Wirksamkeit entfalten kann.

Wir müssen daraus schließen, daß neben den rein quantitativen Beziehungen zwischen Komplement und Immunkörper auch qualitative, je nach dem jeweilig angewandten Komplement und Immunkörper variable Beziehungen eine große Rolle spielen.

Für diese Annahme spricht auch der Umstand, daß wir konstatieren konnten, daß die Lösungsgeschwindigkeit nicht immer parallel geht mit der Titerhöhe, daß z. B. Komplement III bei derselben Konzentration durchweg eine langsamere Lösung bewirkt als das Komplement II, und daß trotzdem durchgehends mit Komplement III bei Immunseris, deren Wirksamkeit schwankt, bessere Immunkörpertiter zu konstatieren waren, als mit Komplement II.

Wie bereits oben erwähnt, haben die Versuche von v. Dungern, Gruber, Morgenroth und Sachs gezeigt, daß die zur Komplettierung notwendige Komplementdosis mit der Erhöhung der angewandten Immunkörpermenge sinkt, mit der Verringerung des Immunkörpers steigt. Morgenroth und Sachs haben überdies gefunden, daß der Einfluß der Immunkörperdosis auf den Komplementbedarf, je nachdem welcher Tierart Blutkörperchen, Immunserum und Komplement entnommen sind, ein verschiedener ist, daß bei manchen Systemen z. B. der Komplementbedarf um das 20-fache sich bei Veränderung der Immunkörperdosis ändern kann, während bei anderen Systemen die Immunkörperdosis auf den Komplementbedarf überhaupt keinen Einfluß ausüben soll.

Uns lag nun daran, zu prüfen, wie in dieser Hinsicht die Verhältnisse bei ein und demselben System — Hammelblutkörperchen + hammelblutlösendes Kaninchenimmunserum + Meerschweinchenkomplement — liegen, wenn man verschiedene Kaninchenimmunsera und verschiedene Meerschweinchenkomplemente gegenseitig auswertet.

Wir müssen also zunächst untersuchen, was geschieht, wenn wir die bei einer bestimmten Konzentration ein und desselben Komplementes bestimmte Minimaldosis verschiedener hammelblutlösender Kaninchenimmunkörper verdoppeln; ändert sich in irgendwelcher gesetzmäßigen Weise der Komplementbedarf bei den verschiedenen Immunkörpern, oder zeigen die einzelnen Immunsera diesbezüglich ein verschiedenes Verhalten?

Des ferneren ist es von Interesse, zu erfahren, ob bei Verdoppelung der für die gleiche Konzentration verschiedener Komplemente jedesmal bestimmten Immunkörperminimaldosis die nunmehr zur einfachen Komplettierung notwendigen Konzentrationen verschiedener Komplemente untereinander gleich sind, oder ob der jeweilige Komplementbedarf ohne Gesetzmäßigkeit je nach dem gerade angewandten Komplement schwankt.

Zu diesem Zwecke wurde gleich im Anschlusse an die Versuche, welche in Tabelle I mitgeteilt sind, folgendermaßen verfahren: Die dort für jedes Komplement (Konzentration 1 : 30) gefundene Minimaldosis der einzelnen Immunkörper wurde in doppelter Menge angewandt und nunmehr die zur Komplettierung notwendige Dosis des jeweiligen Komplementes bestimmt. Die Resultate dieses Versuches sind in Tabelle II wiedergegeben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Die in Tabelle I gefundenen Minimaldosen der Immunkörper werden in doppelter Menge angewandt, und nun wird die für die Lösung erforderliche minimale Komplementkonzentration bestimmt (und zwar stets für dasjenige Komplement, mit welchem die betreffende Immunkörperminimaldosis bestimmt wurde).

Die Zahlen geben die jeweiligen minimalen Komplementkonzentrationen an.

	Kompl. I	Kompl. II	Kompl. III	Kompl. IV
Immunkörper 140	1:300	1:60	1:120	1:120
„ 179	1:30	1:30	1:60	1:30
„ 175	1:30	1:90	1:90	1:90
„ 173	1:30	löst nicht vollständig	1:90	1:90

Wir finden bei Betrachtung der Tabelle II, daß die Beeinflussung der Komplementmenge durch die Immunkörperdosis auch für ein und dasselbe System keine Konstanz zeigt.

Vergleichen wir zunächst den Bedarf an einem und demselben Komplement für die doppelte Minimaldosis verschiedener Immunkörper, so sehen wir, daß die zur Komplettierung notwendige Konzentration des Komplementes je nach dem angewandten Immunkörperserum (derselben Tierart) erheblich schwankt. Während z. B. von Komplement I für die doppelte Minimaldosis des Immunkörpers 140 nur $^1/_{10}$ jener Konzentration notwendig ist, mit welcher die Immunkörperminimaldosis bestimmt wurde, hat sich die notwendige Konzentration von Komplement I durch Verdoppelung der Minimaldosis von Immunkörper 179, 175, 173 nicht geändert.

Haben wir anderseits in einem Vorversuch von einem bestimmten Immunkörper die Dosis minimalis für eine stets gleiche optimale Komplementkonzentration bestimmt, so hängt, wie wir sehen, der Komplementbedarf der doppelten Dosis dieses Immunkörpers von der unkontrollierbaren Beschaffenheit des jeweiligen Meerschweinchenserums ab. Mit anderen Worten: Verdoppelt man die bei einer bestimmten Konzentration (1 : 30) eines im Versuch befindlichen Komplementes bestimmte Minimaldosis stets desselben Immunkörpers, so kann bei dem einen Komplemente nurmehr $^1/_{10}$ der früheren Konzentration notwendig sein, während bei einem gleichen Versuche, wenn ein anderes Meerschweinchenkomplement angewandt wird, die zur Lösung notwendige Konzentration für die einfache und doppelte Immunkörperdosis die gleiche ist.

Wir sehen also, daß wir bezüglich des Komplementbedarfes eines noch so oft erprobten Immunkörpers keine zahlenmäßigen Folgerungen ziehen dürfen, daß vielmehr dieser mit dem jeweiligen Komplement variiert; ferner können wir konstatieren, daß auch die Beeinflussung des Komplementbedarfes durch eine bestimmte Erhöhung der Immunkörperdosis durch die Beziehungen des gerade angewandten Komplementes zu unserem Immunkörper in weiten Grenzen variiert wird.

Die hier mitgeteilten Tabellen sind nur Beispiele einer sehr ausgedehnten Reihe von Versuchen, welche alle in gleichem Sinne ausgefallen sind. Theoretische Betrachtungen, die sich daran knüpfen, sollen im Zusammenhang einer besonderen Mitteilung vorbehalten bleiben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Erwähnt sei hier, daß die von uns gemachten Befunde insofern große praktische Bedeutung haben, als sie Fehlerquellen für die Serodiagnose der Syphilis aufdecken. Wenn wir bei dem Ablenkungsverfahren auch in jedesmaligem Vorversuche bei einer gewissen Komplementkonzentration die Dosis minimalis ein und desselben Immunkörpers bestimmen, so wissen wir nunmehr, daß das angewandte Multiplum einmal nur einen geringen Komplementbedarf haben kann. Es leuchtet ein, daß in dem Falle, wo geringer Komplementbedarf vorliegt, erst eine sehr starke Komplementablenkung eine Hemmung geben wird, während bei großem Komplementbedarf bereits die geringste — vielleicht in physiologischen Grenzen stattfindende — Ablenkung Hemmung erzeugen muß.

Diese Fehlerquellen sind es wohl, welche es verschulden, daß die Intensität der Reaktion plötzlich an bestimmten Tagen in einem serodiagnostischen Institut in allen syphilisverdächtigen Proben gegenüber den Vortagen sich ändert (M. Stern). Und vielleicht sind auch die Differenzen in den Resultaten, die bei der Untersuchung ein und desselben Falles gleichzeitig in verschiedenen Instituten oder in einem Institut in Zeiten von kurzem Intervall erzielt werden, auf diese Fehlerquellen zurückzuführen.

Es wird sich wohl empfehlen, diese Fehlerquellen sowohl bei wissenschaftlichen wie bei serodiagnostischen Untersuchungen durch eingehende Vorversuche auszuschließen.

Fassen wir unsere Resultate zusammen, so können wir sagen, daß das Verhältnis zwischen Immunkörperdosis und Komplementbedarf bei ein und demselben System nicht konstant ist, sondern je nach Immunkörper und je nach dem jeweiligen Komplement innerhalb weiter Grenzen variiert.

Anmerkung während der Korrektur: Während der Drucklegung dieser Arbeit ist mein treuer Mitarbeiter, Herr Dr. B. Goldschmidt, vom Tode dahingerafft worden. Ich betrachte es als traurige Ehrenpflicht, an dieser Stelle seiner in Dankbarkeit für seine stete Hilfsbereitschaft zu gedenken. R. Scheller.

Nachdruck verboten.

Le diagnostic de la coqueluche fruste par la méthode de la fixation d'alexine.

[Institut Pasteur de Bruxelles.]

Par les Drs. **J. Bordet** et **O. Gengou.**

De toutes les maladies infectieuses du jeune âge, la coqueluche est sans contredit celle qui frappe le plus d'enfants. L'évolution même de cette affection en explique du reste assez bien la grande contagiosité: en effet, l'expectoration, comme nous l'avons montré[1]), contient déjà en abondance le bacille coquelucheux avant que n'apparaissent les quintes de toux caractéristiques du mal, pendant une période plus ou moins longue, au cours de laquelle le patient ne présente que des symptômes

1) Bordet et Gengou, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1906.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

peu nets, insuffisants pour permettre un diagnostic sûr. Aussi, à cette période de la coqueluche est-il bien rare que l'on songe déjà à s'opposer à la contagion.

Dès que, au contraire, l'affection est reconnue avec certitude, il est facile au médecin d'obtenir l'isolement du malade. Mais, à côté des cas où le diagnostic s'impose et où les prescriptions hygiéniques peuvent être suivies aussitôt qu'il est possible, combien n'y en a-t-il pas où, faute de signes nets, le diagnostic reste en suspens, où la suspicion de coqueluche, au lieu de se changer en certitude, s'atténue et où, en conséquence, les mesures prises pour éviter la propagation de la maladie, se relâchent, jusqu'à devenir illusoires. Ces cas, on les a décrits depuis longtemps; on sait qu'à côté des formes typiques de coqueluche, on en rencontre, au cours des épidémies, d'autres où les symptômes sont frustes et où l'on ne soupçonne l'existence de cette affection, qu'en raison de l'épidémie que l'on traverse. De plus, les réserves mêmes dont on entoure le diagnostic dans ces conditions, portent à penser que, soit pendant les épidémies de coqueluche, soit en-dehors d'elles, il existe des formes frustes qui restent entièrement méconnues.

On enseigne d'autre part que, chez l'adulte, la coqueluche présente le plus souvent des symptômes peu marqués et qu'elle est, au reste, peu fréquente. Cette rareté de la coqueluche chez l'adulte est-elle bien démontrée? Etant donnée la difficulté que présente le diagnostic de la coqueluche fruste, même chez l'enfant, n'y a-t-il pas lieu de rechercher si la rareté de la coqueluche chez l'adulte est une réalité ou si elle n'est qu'une apparence résultant de l'insuffisance des moyens cliniques de diagnostic?

On est donc, en somme, en droit de se demander, en raison de l'incertitude qui entoure souvent le diagnostic de formes aberrantes de la coqueluche, si bien des cas n'échappent pas complètement. Il est à peine besoin de signaler le rôle que jouent vraisemblablement, dans la propagation de la maladie, ces cas frustes qui restent méconnus ou ne sont que suspectés et qui peuvent, sans entrave, semer autour d'eux le germe de la coqueluche; il y aurait donc intérêt à posséder une méthode qui permettrait de les dépister avec certitude.

Nos études sur le microbe de la coqueluche ont montré qu'il n'est pas toujours possible d'établir le diagnostic par la recherche du bacille dans l'expectoration des personnes suspectes. Comme nous le rappelions plus haut, ce n'est en effet qu'au début de l'affection que l'expectoration contient en assez grand nombre le bacille coquelucheux, pour que la recherche et l'isolement en soient commodes; plus tard, en même temps que l'expectoration se peuple d'autres germes, de forme plus ou moins voisine de celle du microbe coquelucheux, celui-ci se fait de plus en plus rare et la recherche en devient de moins en moins facile.

Mais nous avons montré que le sérum des enfants convalescents ou atteints depuis quelque temps de coqueluche typique, contient toujours une sensibilisatrice énergique vis-à-vis du bacille coquelucheux, fixant par conséquent sur celui-ci l'alexine des sérums normaux. Au contraire, cette propriété n'existe pas dans le sang d'enfants bien portants ou atteints d'affections différentes de la coqueluche. Elle est donc propre à cette dernière et en constitue une marque distinctive irrécusable.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

C'est en utilisant cette propriété que Gengou et Brunard[1]) ont montré la possibilité d'établir d'une façon certaine le diagnostic de la coqueluche fruste chez l'adulte. Dans les trois cas qu'ils ont étudiés, il s'agissait d'adultes ayant présenté pendant deux mois une toux expiratoire, légèrement spasmodique, sans expectoration, bref les symptômes peu caractéristiques que l'on signale dans la coqueluche chez l'adulte et qui ne permettent guère un diagnostic sûr. Dans aucun des trois cas rapportés par Gengou et Brunard, la coqueluche n'avait été reconnue cliniquement. Ce ne fut que lorsque des formes typiques de coqueluche apparurent chez des enfants de l'entourage de ces malades, pendant le cours de leur propre affection, que l'on soupçonna chez ceux-ci l'existence de la coqueluche et que la recherche de la sensibilisatrice anticoquelucheuse dans leur sérum fut décidée. Le résultat de cette recherche fut positif, démontrant ainsi la nature de la maladie des adultes, établissant donc l'existence de cas de coqueluche si fruste qu'elle peut être complètement méconnue et élucidant en même temps l'origine des cas typiques de coqueluche infantile apparus ultérieurement.

C'est par la même méthode que nous avons démontré, ainsi que l'a rapporté récemment Mr le Dr. Delcourt[2]), l'existence de la coqueluche fruste chez deux autres adultes et chez un certain nombre d'enfants, au cours d'une épidémie de coqueluche qui a sévi en 1910 dans une commune voisine de Bruxelles. Mr le Dr. Delcourt, qui observa ces enfants, raconte qu'il n'était pas possible de faire le diagnostic de coqueluche. On n'y aurait même pas songé, si l'on n'avait été guidé par l'existence de l'épidémie qui sévissait à ce moment dans la commune. Les enfants, dont le sang fut examiné, toussaient comme s'ils avaient été atteints d'un simple catarrhe bronchique; ils ne présentaient pas les symptômes habituels de la coqueluche, tels que les quintes de toux, le cri, les vomissements. Les sérums de six enfants ainsi atteints furent examinés; tous présentaient une sensibilisatrice anticoquelucheuse nette. Le diagnostic de la coqueluche fruste était ainsi établi, entraînant nécessairement l'isolement jusque-là négligé, des enfants atteints.

La méthode de la fixation d'alexine permit de même de démontrer l'existence de la coqueluche fruste chez une personne adulte, qui souffrait depuis deux mois d'une toux spasmodique et qui, faisant partie du personnel enseignant, continuait néanmoins à fréquenter trois écoles de la même commune. Inconsciemment et sans que l'on y prît garde, elle contribuait ainsi à la propagation de la maladie.

Ces faits montrent, comme on voit, l'utilité que peut présenter la recherche de la sensibilisatrice anticoquelucheuse dans le sang des individus suspects, et pour le diagnostic des cas frustes et pour orienter convenablement les efforts dans la lutte contre la propagation de la coqueluche. Cela ressort encore, d'autre part, de l'étude des cas où le résultat de la séroréaction fut négatif et eut pour conséquence qu'aucune mesure d'isolement des personnes suspectes ne fut prise. Or, dans l'entourage de celles-ci, aucun cas de coqueluche ne se présenta, ce qui démontrait qu'il ne s'agissait vraiment pas de coqueluche, ainsi que la séroréaction l'avait indiqué.

---

1) Gengou et Brunard, Bull. de l'Acad. Roy. de méd. de Belgique. 1910.
2) Delcourt, Arch. de méd. d. enfants. 1911. No. 1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

La méthode de la fixation d'alexine permet donc de dépister sûrement des formes frustes de coqueluche qui, en l'absence de cette méthode, passeraient inaperçues ou dont le diagnostic serait fort douteux. Rappelons que c'est par la même méthode que Cohen[1]) a pu dépister des cas frustes, cliniquement mal caractérisés, de méningite cérébro-spinale épidémique.

1) Cohen, Bull. de la Soc. Roy. d. scienc. méd. et natur. de Bruxelles. 1906.

Inhalt.

v. Betegh, L., Studien über experimentelle Tuberkulose der Meeresfische, p. 495.
Bordet, J. et **Gengou, O.**, Le diagnostic de la coqueluche fruste par la méthode de la fixation d'alexine, p. 573.
Busson, Bruno, Ein Beitrag zur Kenntnis der Lebensdauer von Bacterium coli und Milzbrandsporen, p. 505.
Galli-Valerio, B., Sur un Piroplasma d'Erinaceus algirus, p. 565.
Glenn, T. H., Variation and carbohydrate metabolism of bacilli of the Proteus group, p. 481.
Preisz, H., Studien über das Variieren und das Wesen der Abschwächung des Milzbrandbacillus, p. 510.
Scheller, R. und **Goldschmidt, B.**, Experimentelle Beiträge zum Studium des Mechanismus der Immunkörper- und Komplementwirkung, p. 569.
Schöppler, Herrmann, Ueber Ascaris mystax R. beim Menschen, p. 567.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 58. Heft 7.
Ausgegeben am 27. Mai 1911.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Studien der Typhus-Coli-Dysenteriebakterien im Anschluss an eine kleine Ruhrepidemie in Mitteldeutschland.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Jena (Direktor: Geh. Hofrat Prof. Dr. A. Gärtner).]

Von

Oberarzt Dr. **Schroeter**, kommandiert zum Institut. und Dr. **Gutjahr**, früherem Assistenten am Institut.

I. Epidemiologisches.

Durch Arbeiten zahlreicher Autoren ist in den letzten Jahren zur Genüge festgestellt worden, daß die Ruhr in fast allen Gegenden Deutschlands beobachtet wird und daß sie bald hier, bald dort zu größeren oder kleineren Epidemieen emporflackern kann. Außerdem ist über den Erreger der bakteriellen Ruhr, die hier allein in Frage kommt, hinlänglich bekannt, daß nicht nur ein Krankheitskeim als Ursache derselben gilt, sondern daß eine ganze Gruppe von Bakterien, die von Lentz in 4 Typen eingeteilt werden (Shiga-Kruse, Flexner, Strong und Y), imstande sein können, das klinische Bild der Dysenterie hervorzurufen.

Am 14. Febr. 1910 trafen von einem praktischen Arzt eines thüringischen Städtchens Tr. 2 Stuhlproben zur bakteriologischen Untersuchung in Jena ein, die von einem 6-jährigen Mädchen stammten, mit der Bemerkung, daß in ein und demselben Hause 5 Personen unter ruhrverdächtigen Symptomen erkrankt wären. Die Krankheitserscheinungen waren bei zweien nach 4-tägigem Bestehen bereits im Abklingen, zwei andere Personen zeigten außer einigen Durchfällen überhaupt kaum irgendwelche Allgemeinerscheinungen.

Die eingesandten Stühle waren dünnflüssig, enthielten keine Blutbeimengungen und ihr Geruch war kaum von dem eines normalen Stuhles verschieden.

Bei der Verarbeitung auf Endo-Platten wuchsen nach 24 Stunden im Brutschrank bei 37° helle Kolonieen, die sich sehr deutlich von den metallisch glänzenden Coli-Kolonieen ihrer Umgebung abhoben und mit einem Typhusimmunserum orientierend agglutinierten. Der darauf angesetzte Widal war positiv bis zur Verdünnung 1:1500 (Serumtiter 1:3000), und die Bakterien wuchsen auf der für Typhus üblichen Nährbödenreihe ähnlich wie letztere; deshalb wurde zunächst die Diagnose auf „Typhus" gestellt, jedoch mit dem Vorbehalt, die gewonnenen Stämme einer genaueren Prüfung zu unterziehen.

Am 17. Febr. 10 trafen von demselben Arzt zwei weitere Faecesproben ein von einem 4-jährigen Kind, das ähnliche Krankheitserscheinungen bot, wie das zuerst erkrankte Mädchen. Auch dieser Stuhl zeigte ähnliche Beschaffenheit, war eher sogar mit „fest" zu bezeichnen. Die bakteriologische Untersuchung hatte genau dasselbe Resultat, nur daß

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der isolierte Stamm mit demselben Typhusimmunserum bis 1:1200 agglutinierte.

Am 6. März 10 folgten aus demselben Ort wiederum 2 Stühle von einer 25-jährigen Patientin mit der Weisung, daß diese Proben zu einer Zeit gewonnen waren, wo die Erkrankung bereits in Genesung übergegangen war. Schleim oder Blut fand sich nicht darin. Das Haus, in dem diese Erkrankung auftrat, lag von den ersten Krankheitsfällen etwa 200 m entfernt, dazwischen befand sich ein Gebäude ohne Krankheitsfall.

Auf die Anfrage über die näheren klinischen Erscheinungen der Epidemie, denn darum handelte es sich offenbar, erhielten wir folgenden Bescheid:

Der Verlauf der Erkrankungen entsprach in jeder Beziehung dem Bilde einer mittelschweren Ruhr. Die Kinder, bei denen die Symptome zuerst auftraten, fühlten sich im Anfang unwohl, bekamen Temperatursteigerungen und verspürten schließlich Schmerzen im Leib; bald darauf begannen die Durchfälle; es erfolgten täglich 20—40 Dejektionen, bald mehr, bald weniger. Vom 3.—5. Krankheitstage ab fanden sich Temperaturen bis zu 39,5°, der Leib war sehr druckempfindlich, der Stuhlgang ließ viel Blut, nach Versicherung der Eltern hin und wieder nur Blut erkennen. Schleimhautfetzen, schleimig-eitrige Sekretion war in jedem Falle vorhanden. Die Patienten wurden wie Dysenteriekranke behandelt, anfangs abführend, dann stopfend, und zwar letzteres sehr vorsichtig.

Zunächst ging die Temperatur zurück; trotzdem kamen die Kinder erheblich herunter, sie sahen hohlwangig und bleich aus.

Nach 6—8 Tagen ließen die Blutbeimengungen nach, bald auch schwand der Schleimgehalt, der teilweise aber noch zu einer Zeit gefunden werden konnte, wenn die Stühle sich bereits zu formen begannen. Nach 10—14 Tagen waren alle Symptome der überstandenen Krankheit geschwunden.

Bei zwei weiteren unter leichten Erscheinungen erkrankten Erwachsenen gingen Beschwerden und Durchfälle nach eingesetzter Behandlung bald zurück.

Aus den Stuhlproben vom 6. März 10 gelang es, Bacillen zu züchten, die kulturell (auch auf Maltose, Saccharose, Mannit und Milchzucker geprüft) mit den Ruhrbacillen vom Typus Y übereinstimmten; gleichzeitig wurden auch die von den ersten Erkrankungen gewonnenen Stämme als Y-Bakterien erkannt. Ueber die Art der fortlaufenden Untersuchung soll weiter unten berichtet werden.

Ein anderer Stuhl, der am 15. März 10 eintraf und von einem 2-jährigen Kind stammte, bestand makroskopisch fast nur aus Blut mit Schleimhautfetzen; das Kind war am 11. März 10 erkrankt. Trotz großen Bemühens konnten hieraus keine ruhrverdächtigen Bacillen gezüchtet werden.

Die letzte Stuhlsendung vom 24. März 10 von einem 8 Monate alten Kind, das am 23. März erkrankt war, zeigte eine blutig-wässerige Beschaffenheit mit gallertigen Beimengungen. Auch aus dieser Probe konnten keine Dysenteriebacillen isoliert werden, wohl aber ein anderes Bakterium, das sich auf den Zuckernährböden wie Coli verhielt, auf Y-Serum aber sehr stark agglutinierte und auf Endo-Agar anfangs in hellen Kolonieen wuchs (Coli 1662).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Soviel aus den Mitteilungen des Arztes hervorging, handelt es sich also um eine Ruhrepidemie, von der etwa 10 Erkrankungen zu seiner Kenntnis kamen; meist waren Personen im kindlichen Alter betroffen. Von 5 Patienten wurden Stuhlproben eingesandt, bei deren Untersuchung 3 ein positives und eine ein fragliches Resultat lieferten. Die gewonnenen Stämme wurden benannt:

aus den Faeces vom 14. Febr. 10 als Y 1412
„ „ „ „ 17. „ 10 „ Y 1439
„ „ „ „ 6. März 10 „ Y 1536
und Y 1537
„ „ „ „ 24. „ 10 als Coli 1662

Weiteres Krankenmaterial stand uns leider nicht zur Verfügung, auch konnten wir nicht zu Blutproben der erkrankten Patienten gelangen, um an ihrem Serum die gewonnenen Stämme auf ihre agglutinierenden Eigenschaften zu prüfen.

Da es von Interesse schien, bei der kulturellen und serologischen Untersuchung der gezüchteten Stämme zum Vergleich auch andere ihnen nahestehende Bakteriengruppen heranzuziehen, so wurden folgende Kulturen der Prüfung mitunterzogen, über deren Name und Herkunft folgende Tabelle Aufschluß gibt:

Tabelle I.

No.	Stamm	Herkunft
1.	Typhus 1524	Frisch aus Stuhl isoliert
2.	Paratyphus A	Laboratoriumsstämme, teilweise aus dem Hygienischen Institut Königsberg
3.	Paratyphus B	
4.	Enteritidis Gärtner	
5.	Bacterium coli	
6.	Shiga-Kruse	
7.	Flexner	
8.	Y 1412	Aus der erwähnten Epidemie
9.	Y 1439	
10.	Y 1536	
11.	Y 1537	
12.	Coli 1662	
13.	DH	= Dysenterie Hofgeismar, von Konrich bei einem aus Afrika heimgekehrten Soldaten gefunden
14.	Y	Aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt
15.	Strong	

Beiläufig sei noch erwähnt, daß sämtliche Stämme zunächst auf Platten gebracht wurden, teils um sie auf ihre Reinheit zu prüfen, teils um nur sichere getrennte Kolonieen als Ausgangsmaterial zu benutzen. Auch während der Untersuchung wurde wiederholt auf Nachprüfung bezüglich der Reinheit der Stämme besonderer Wert gelegt.

II. Morphologische und kulturelle Prüfung.

Die 5 gezüchteten Stämme erwiesen sich im gefärbten Präparat als kurze, plumpe Stäbchen mit abgerundeten Ecken. Die Beweglichkeit wurde im hängenden Tropfen geprüft; sie ergab das Fehlen der Eigenbewegung bei den 4 Y-Stämmen, das Vorhandensein derselben aber bei Coli 1662; das Darstellen der Geißeln nach der Zettnowschen Versilberungsmethode gelang nur bei dem letzten Stamm, während es niemals möglich war, bei einem der anderen 4 Bakterienarten auf diese

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Weise Geißeln zu Gesicht zu bekommen. Selbstverständlich wurden auch die Kontrollstämme der Typhus-Coli-Gruppe und die als sichere Ruhrstämme aus den verschiedenen oben erwähnten Instituten erhaltenen Kulturen derselben Untersuchung auf ihre Beweglichkeit hin und das Vorhandensein von Geißeln geprüft; wir konnten bei ihnen übereinstimmend mit den bisher bekannnten Angaben das Vorhandensein oder Fehlen der Bewegungsorgane bestätigen.

Die Färbung nach Gram geschah nach der von Lingelsheim angegebenen Methode:

1) Karbolgentianaviolett (1 g Gentianaviolett, 10 ccm Alkoh. absol., 100 ccm 5-proz. Phenollösung) 30 Sekunden,
2) Lugolsche Lösung (1 Jod, 2 Jodkali, 300 Aq. dest.) 30 Sekunden,
3) Alkohol absol. 30 Sekunden,
4) Wasserspülung, Trocknen,
5) Gegenfärbung (verdünnte Fuchsinlösung).

Das Herstellen dieser Farblösung bot keine Schwierigkeiten, das Arbeiten damit ging rasch von statten und lieferte vorzügliche Resultate. Alle Stämme waren gramnegativ.

In der gewöhnlichen Gelatine zeigten die einzelnen Y-Stämme zunächst ein verschiedenartiges Verhalten nicht nur untereinander, sondern man konnte sogar in einer und derselben Platte ein differentes Wachstum wahrnehmen, indem gewöhnlich zwei ganz verschiedenartige Kolonieen zu finden waren: Die eine, rundlich, bot in ihrer Form und Körnelung nur geringe oder gar keine Differenzen dar; bei der anderen Wachstumsform befand sich auch in der Mitte der Kolonie ein rundlicher Kern; von diesem gingen aber lange, büschelförmige Ausläufer in die Umgebung aus, so daß dadurch offenbar der Eindruck einer Verunreinigung hervorgerufen wurde. Um dieser eigentümlichen Tatsache auf den Grund zu kommen, wurden deshalb beide Kolonieentypen für sich getrennt abgeimpft und jede für sich wiederum in Gelatine gebracht. Dabei zeigte es sich nun, daß die anfänglich rundlichen Kolonieen imstande waren, sowohl wieder rundliche als auch die eigentümlich strahligen Kolonieen zu erzeugen, andererseits gingen aus den Kolonieen mit Ausläufern sowohl wieder solche, als auch runde Formen hervor. Es handelte sich demnach wohl sicher um keine Verunreinigung, sondern nur darum, daß die Dysenteriebacillen in Gelatine verschiedenartige Kolonieen bilden können, was auch von anderer Seite mehrfach betont worden ist. Da es jedoch von Interesse schien, klarzustellen, ob diese beiden Wachstumsformen auch auf anderen Nährböden differente Eigenschaften aufweisen würden, so wurde jeder Y-Stamm, bei dem diese Differenz aufgetreten war, in 2 Unterabteilungen geteilt und jede für sich der gleichen weiteren kulturellen Prüfung unterzogen. Wir unterschieden von jetzt ab also folgende Stämme:

Y 1412 a	Y 1439 b
Y 1412 b	Y 1536
Y 1439 a	Y 1537

Ihr Verhalten nach 3 × 24 Stunden bei Zimmertemperatur ist aus Tabelle II ersichtlich.

Es zeigten also Y 1412 a, Y 1412 b, Y 1439 a und Y 1439 b im ganzen ähnliches Wachstum in der Gelatine, ihre Kolonieen waren kreisrund, glattrandig, von gelbweißer Farbe und mit feiner Körnelung im Innern. Dagegen wuchsen Y 1536 und Y 1537 teils als längliche Kolonieen,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Wachstum in Gelatine nach 3×24 Stunden.

Typhus 1524	Paraty A	Paraty B	Enterit. Gärtner	Bact. coli	Kruse-Shiga
Kreisrunde, ganz glattrand., gelbbraune Kol., mehrfache Zonenringelung (1—3), Körnelung fein	Rundliche braungelbe Kolon. mit nicht ganz scharfem Rand; Körnelung grob, mitunter deutl. Zonenzeichnung	Kreisrunde, scharfrand., schwarzbraune Kol. Körnelung grob, mitunter Zonenzeichnung	Kreisrunde, ganz scharfrandige, gelbliche Kolonieen m. äußerst feiner Körnelung; bei größeren Kolonieen Zonenzeichnung	Kreisr., scharfrandige, braungelbe Kolonieen, Körnelung grob; Zonenzeichnung angedeutet, außerdem dichtmasch. Aederung durch die ganze Kolonie	Runde, gelbliche, scharfrandige Kol. mit feiner Körnelung; keine Zonenzeichnung

Flexner	Y 1412 a	Y 1412 b	Y 1439 a	Y 1439 b	Y 1536
Wie Kruse, nur geringe Zonenbildg.	Kreisrunde, braungelbe Kolonieen mit ganz glattem Rand, feine Körnelung, bei manchen Zonenzeichnung vorhanden; ähneln im ganzen d. Typhuskolonieen, erscheinen jedoch etwas heller	Wie 1412a, nur größere Körnelung u. dunklere Färbung	Kreisr., gelbweiße, glattrandige Kol., ganz feine Körnelung, Zonenzeichnung bei manchen vorhanden	Wie 1439a	Kreisrunde bis längliche Kolonieen, mit langen büschelförmigen Ausläufern in die Umgebung, besonders an den Enden der längl. Kolonieen; Farbe bräunlich, Körnelung mittelfein. Außerdem bestehen zahlreiche von den länglichen Kolonieen aus mehreren kleinen, die an eine größere angereiht sind

Y 1537	DH	Strong	Y	Coli 1662
Wie 1536, nur weniger zahlreiche Tochterkolonieen	Rundliche, braune Kolonieen m. nicht ganz scharfem Rand, sehr deutliche Zonenzeichnung und feine Körnelung. Tochterkolonieen wie 1536	Kreisrunde bis rundliche Kolonieen, hellgelb, feine Körnelung; erscheinen wie 1412 a	Kreisrunde, braungelbe, glattrandige Kolonieen, Körnelung mittelgrob, ähneln Typhuskolonieen	Rundliche, gelbbraune, glattrandige Kolonieen, mittelgrobe Körnelung

Tabelle III.

Oberflächenwachstum auf Gelatine mit hohem Schmelzpunkt (nach Forster) nach 3×24 Stunden.

Typhus 1524	Paraty A	Paraty B	Enterit. Gärtner	Coli
Bis 1 mm D, durchsichtige, rundliche Kolonieen m. scharf abgesetztem gelblichem Nabel und hellerer Randzone. Rand glatt, aber unregelmäßig; feine Körnelung, uunregelmäßig geäderte Weinblattform	1—2 mm D, bräunliche Kolonieen v. rundlicher Form, weniger durchsichtig wie Ty; feine Körnelg., bei einzelnen Nabelbildung und Aederung	Bis 2 mm D, vollkommen undurchsichtige, grob gekörnte Kolonieen von brauner Farbe; Rand vollkommen glatt	Bis $1^1/_2$ mm D, im Zentrum dunkelgelbe, rundl. Kolonieen mit heller breiter Randzone; Rand unregelmäßig gefranst, Körnelung mittelgrob	Bis 2 mm D, nicht absol. runde, mehrpolygonale Kolonieen mit gelblichem Zentrum u. hellerer Randzone; Rand unregelmäßig gelappt; grobe Körnelung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kruse-Shiga	Flexner	Y 1412 a	Y 1412 b	Y 1439 a	Y 1439 b	Y 1536
$^1/_2$—1 mm D, noch unregelmäßigere Form als Coli, Farbe gelblich, Rand stark gelappt, feine Körnelung und Aederung, einzelne Kolonieen m. Nabelbildung	1—2 mm D, großes, braunes Zentrum, sonst wie Typhus	1—2 mm D, Kolonieen mit nabelförmigem, gelbem Zentrum und sehr heller, breiter Randzone; Rand gelappt, Aederung und Weinblattform ähnlich wie Typhus	Wie Y 1412a	1—4 mm D, sehr helle, ganz unregelmäßige Kolonieen, mit kleinem hellem Nabel, Körnelung fein, Aederung wie bei Typhus	Wie 1439a nur kleiner	1 mm D, Kolonieen wie 1412a, jedoch auf ihnen unregelmäßig verteilte, kleinere, dunklere, scharf abgesetzte Tochterkolonieen

Y 1537	DH	Strong	Y	Coli 1662
Wie 1536	Bis $1^1/_2$ mm D, Kolonieen von unregelmäßiger, polygonaler Form mit vereinzelter Nabelbildung, Zentrum gelbbraun, hellerer Rand, mittelfeine Körnelung	1—2 mm D, helle, durchsichtige Kolonieen mit punktförmigem, dunklem Nabel und gelblichem, hellem Rand; dieser unregelmäßig gelappt; Form der Kolonieen mehr polygonal; Körnelung fein	1—$1^1/_2$ mm D, sehr helle, rundliche Kolonieen mit gelblichem Zentrum u. heller Randzone; Rand gelappt, Körnelung fein; auf vielen Kolonieen kleine, unregelmäßig verteilte, dunklere Tochterkolonieen	1—2 mm D, wie Coli

welche von ihren beiden Enden büschelförmige Ausläufer in die Umgebung aussandten, teils fanden sich solche ohne Ausläufer, um die rings eine Anzahl kleinerer Tochterkolonieen angereiht waren.

Das Oberflächenwachstum der einzelnen Stämme auf Nährgelatine mit besonders hohem Schmelzpunkt (nach Forster) ergab folgende Resultate (s. Tabelle III).

Auf der Oberfläche der Gelatine waren demnach in dem Wachstum der Y-Stämme, abgesehen von gewissen Differenzen in der Farbe der einzelnen Kolonieen, weniger charakteristische Unterschiede zu erkennen, nur daß sich auf den größeren Kolonieen von Y 1536 und Y 1537 wieder Tochterkolonieen gebildet hatten.

Verflüssigung der Gelatine trat niemals ein, auch nicht bei Beobachtung der Stämme im Gelatinestich, die sich auf 3 Wochen erstreckte. Die Farbe des Stichkanals wechselte von weiß und hellgelb bis in dunkles Braun, das besonders bei den Stämmen Coli und Coli 1662 deutlich hervortrat und mit zunehmendem Alter intensiver wurde. Verästelungen vom Stichkanal aus in die Umgebung waren meist sehr kurz und nahmen nach der Tiefe des Röhrchens zu immer mehr ab; nur bei Y 1536 waren die seitlichen Verzweigungen so ausgesprochen, daß dadurch das deutliche Bild eines umgekehrten Tannenbaumes hervorgerufen wurde, andererseits wuchs derselbe Stamm bei wiederholter Prüfung wieder ohne jede seitliche Verzweigung.

Auf der Agarplatte wuchsen sämtliche Y-Stämme als rundliche, mehr oder weniger helle, durchscheinende Kolonieen, deren Rand feine bis mittelgrobe Zacken aufwies und deren Inneres deutliche Körnelung erkennen ließ; das Zentrum der Kolonie war meist dunkler als die Rand-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zone. Der Durchmesser betrug nicht mehr als 2—3 mm nach 48-stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° (s. Tabelle IV).

Beim Betrachten der Typhuskolonieen (Ty 1524), die auf der Agarplatte gewachsen waren, fiel zunächst deren scharfe Umrandung und kreisrunde Form auf im Gegensatz zu denen von Paratyphus A und B, die schon dadurch allein unschwer sich voneinander trennen ließen. Um nun zu sehen, ob diese kreisrunde Form und der glatte Rand für alle Typhusstämme typisch wäre oder nicht, wurden noch weitere 12 aus Faeces gezüchtete Typhuskulturen daraufhin untersucht; dabei stellte es sich heraus, daß eine Anzahl Stämme dieselbe äußere Form ihrer Kolonieen aufwies, andere aber hatten einen gezackten Rand und ihre Form war unregelmäßig rund, sie näherten sich also in dieser äußeren Wachstumsform mehr dem des Paratyphus. Somit war es nicht möglich, allein aus dem Aussehen der Kolonie zu entscheiden, ob dieselbe eine Typhus- oder Paratyphuskolonie war. Ueber das Wachstum der 17 Stämme auf der Agarplatte gibt die Tabelle IV Aufschluß; die Kolonieen wurden stets mit schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop untersucht.

Der Lackmus-Milchzuckeragar nach Drigalski-Conradi (mit Kristallviolettzusatz) wurde durch Coli und Coli 1662 diffus gerötet, die übrigen Stämme wuchsen in zarten, hellen Kolonieen, ohne die Farbe des Nährbodens weiter zu verändern.

Auf dem Endo-Agar waren es auch wieder die beiden Coli-Stämme, welche ein abweichendes Verhalten den anderen gegenüber zeigten insofern, als durch sie der Nährboden stark gerötet wurde, die Kolonieen bekamen einen metallisch grünen Glanz. Die anderen Stämme, insbesondere die Y-Stämme, ließen den Farbenton des Endo-Agars unverändert, sie wuchsen als helle, manchmal rosa schimmernde Kolonieen, die mit zunehmendem Alter in ihrer Mitte meist ein dunkleres, deutlich rotes Zentrum bekamen.

Das kulturelle Verhalten der 17 Stämme auf der für die Typhusdiagnose üblichen Nährbödenreihe mag aus Tabelle V hervorgehen.

Auf der Kartoffel wuchsen die Y-Stämme also ähnlich wie Typhus, vielleicht einen etwas mehr gelblichen Rasen bildend, was natürlich von der Reaktion des Nährbodens jedesmal bis zu einem gewissen Grade abhängig ist. Der Coli-Stamm trat mit seinem dicken, braungelben Belag deutlich hervor.

In gewöhnlicher Bouillon fand das Wachstum unter allgemeiner Trübung des Materials statt.

Milch wurde während der ganzen Beobachtungszeit von 22 Tagen mit Ausnahme der beiden Coli-Arten von keinem der Stämme zum Gerinnen gebracht; dort trat die Gerinnung schon nach 24 Stunden ein.

Die Petruschkysche Lackmusmolke wurde in den ersten Tagen meist intensiv gerötet, nur bei dem Typhus- und Shiga-Kruse-Stamm in ganz geringem Grade. Ungefähr vom 10. Beobachtungstage ging jedoch die anfänglich bestehende Rötung zurück; die Röhrchen bekamen wieder denselben blauen Farbenton wie die unbeimpften Kontrollen, ja überschritten denselben in manchen Fällen noch erheblich, wie z. B. Paratyphus B, Gärtner, Shiga-Kruse, Y 1412b, Y 1439a, Y 1536, Y 1537, DH und Y. Andere Stämme behielten das zuerst entstandene Rot während der 22 Beobachtungstage bei, so Coli,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Wachstum auf

Wachstumszeit	Aussehen	Typhus 1524	Paraty A	Paraty B	Enterit. Gärtner	Coli	Kruse-Shiga	Flexner
24 Stunden	Größe	bis 2 mm D	bis 2 mm D	bis 3 mm D	bis 3 mm D	bis 4 mm D	bis 3 mm D	wie Kruse
	makrosk. Aussehen	glänzend, bläulich-weiß	dicker, weniger durchsichtig wie Typhus	weißl. Kolon., undurchsichtig	bläulich, dicke Kolonieen	dick, undurchsichtig, gelb	gleichmäß. trübe, spiegelnd	
	mikrosk. Aussehen a) Form	kreisrund	rundlich	nicht gleichmäßig rund	rundlich	rundlich	kreisrund	
	b) Rand	glatt	gezackt	eckig, gelappt	zieml. glatt, leicht gewellt	uuregelmäßig, gezackt	ganz scharf, klein gewellt	
	c) Farbe	im Zentr. leicht gebräunt, am Rand weißlich	Zentrum gelbbraun, Rand heller	gelbbraun	gelblich	braungelb	gelbbraun	
	d) innere Struktur	feine Körnelung	Körnelung gröber wie bei Ty	grobe Körnelung, blattartige Aederung	feine Körnelung wie Ty	grobe Körnelung	feine Körnelung	
48 Stunden	Größe	bis 4 mm D	bis 4 mm D	bis 4 mm D	bis 4 mm D	bis 5 mm D	3—4 mm D	wie nach 24 Std.
	makrosk. Aussehen	wie nach 24 Std.	wie nach 24 Std.	wie nach 24 Std.	wie nach 24 Std.	wie nach 24 Std.	wie nach 24 Std.	
	mikrosk. Aussehen a) Form		die kleinen Kolonieen rundlich, die größeren wie unregelmäßige Vielecke	noch unregelmäßiger				
	b) Rand		wie zersägt	wie nach 24 Std.				
	c) Farbe		Zentrum gelbbraun, am Rand heller					
	d) innere Struktur		dicke Körnelung					

Y 1439 b und Coli 1662. Strong war anfänglich stark rot, dann wurde er blau wie die Kontrolle und schließlich wieder rot.

Als Ursache dieser Schwankungen muß natürlich der verschiedene Grad der Säurebildung angesehen werden, wovon später unten die Rede sein soll.

Der 2-proz. Neutralrotagar wurde von allen Dysenteriestämmen unverändert gelassen; ebensowenig vermochten diese in einer 1-proz. Traubenzuckerbouillon Gas zu bilden.

Der Barsiekow-Milchzucker wurde nur von Coli und Coli 1662 unter Gasbildung vergoren, auch machte sich bei Strong nach 14 Tagen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

der Agarplatte.

Y 1412 a	Y 1412 b	Y 1439 a	Y 1439 b	Y 1536	Y 1537	DH	Strong	Y	Coli 1662
bis 2 mm D	wie 1412a	bis 2 mm D	wie 1439a	bis 2 mm D	bis 2 mm D	bis 2 mm D	bis 2 mm D	bis 2 mm D	bis 2 mm D
gleichmäßig, trübe, spiegelnd		wenig durchsichtig, dunkel		gleichmäßig trübe, spiegelnd	gleichmäßig trübe, spiegelnd	dick, wenig durchscheinend	dicke, wenig durchsichtige Kolonieen	dick, undurchsichtig	dick, gelblich, undurchsichtig
rundlich		rundlich		rundlich	rundlich	rundlich	rundlich	rundlich	rundlich
gröber gezackt wie Kruse		fein gezackt		ganz fein gezackt	unregelmäßig fein gezackt	grob gezackt	gewellt	gezackt	gezackt
Zentrum dunkelgelb, Rand heller		hellbraun		gelbbraun	gelbbraun	bräunlich	Zentrum gelbbraun, Bandzone heller	bräunlich	bräunlich
mittelgrobe Körnelung		grobeKörnelung		feine Körnelung	feine Körnelung	grobe Körnelung	grobe Körnelung	grobe Körnelung	ganz grobe Körnelung
bis 3 mm D	**wie 1412a**	**bis 3 mm D**	**wie 1439a**	**bis 3 mm D**	**wie nach 24 Std.**	**bis 3 mm D**	**bis 3 mm D**	**bis 3 mm D**	**bis 4 mm D**
wie nach 24 Std.		**wie nach 24 Std.**		**wie nach 24 Std.**		**wie nach 24 Std.**	**wie nach 24 Std.**	**wie nach 24 Std.**	**wie nach 24 Std.**
		rundlich							
		grob gezackt					**gezackt**		
		wie nach 24 Std.					**wie nach 24 Std.**		

eine allerdings nur geringe Rötung bemerkbar, aber keinerlei Gasbildung.

Der Barsiekow-Traubenzucker wurde überall gerötet, bei Paratyphus B, Gärtner, Coli und Coli 1662 noch dazu unter Entwickelung von Gasen.

Die Lackmus-Mannit-Nutroselösung wurde nur von dem Shiga-Kruse-Stamm unverändert gelassen, sämtliche anderen Dysenteriestämme verursachten bei ihr Rötung und Gerinnung, Paratyphus A, B, Gärtner, Coli und Coli 1662 wiesen außerdem noch Gasentwickelung auf.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

Nährboden und Beobachtungszeit		Typhus 1524	Paraty A	Paraty B	Enteritidis Gärtner	Coli	Kruse-Shiga	Flexner	Y 1412 a	Y 1412 b
Kartoffel	24 Stunden	weißlicher Rasen	gelbweiß	gelbbraun, dick	graubraun, dick	braungelb, dick	gelbweiß	gelbweiß	gelbweiß	gelbweiß
	48 „	dgl.	„	dgl.	dgl.	dgl.	„	„	„	„
	4×24 Std.	Belag überall zugenommen, Färbung intensiver								
	10×24 „									
	15×24 „									
	22×24 „									
Bouillon	24 Stunden	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung
	48 „	„	„	„	„	„	„	„	„	„
	4×24 Std.	„	„	„	„	„	„	„	„	„
	10×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	„
	15×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	„
	22×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	„
Milch	24 Stunden	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	Gerinnung	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert
	48 „	„	„	„	„	„	„	„	„	„
	4×24 Std.	„	„	„	„	„	„	„	„	„
	10×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	„
	15×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	„
	22×24 „	„	„	beginnende Verseifung	„	„	„	„	„	„
Lackmusmolke (Petruschky)	24 Stunden	wenig gerötet	etwas mehr rot als Ty	stark rot	stark rot	ziegelrot	wenig gerötet	etwas röter als Kruse	wie Paraty A	stark rot
	48 „	„ „	dgl.	„ „	Rötung ger.	„	wie Kontrolle	dgl.	„ „ „	„ „
	4×24 Std.	stärker rot	stärker rot	„ „	„ „	„	„ „	stärker rot	stärker rot	Rötung nachgelassen
	10×24 „	Rötung wieder zugenommen	Rötung wieder zugenommen	beginnt wieder blau zu werden	wie Kontrolle	„	„ „	fast wie Kontrolle	„ „	wie Kontrolle
	15×24 „	Rötung geringer	ziegelrot	dgl.	„ „	„	stärker blau als Kontrolle	dgl.	Rötung geringer	stärker blau als Kontrolle
	22×24 „	fast wie Kontrolle	Rötung etwas abgenommen	stark blau	stärker blau als Kontrolle	„	dgl.	„	fast wie Kontrolle	dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nährboden und Beobachtungszeit		Typhus 1524	Paraty A	Paraty B	Enteritidis Gärtner	Coli	Kruse-Shiga	Flexner	Y 1412 a	Y 1412 b
Neutralrot-agar	24 Stunden	unverändert	Gas, Fluoreszenz	Gas, Fluoreszenz	Gas, Fluoreszenz	Gas, Fluoreszenz	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert
	48 „	„	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	„	„	„	„
	4×24 Std.	„	„	„	„	„	„	„	„	„
	10×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	„
	15×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	„
	22×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	„
Traubenzucker-bouillon (1 Proz.)	24 Stunden	Trübung	Trübung, Gas	Trübung, viel Gas	Trübung, viel Gas	Trübung, sehr viel Gas	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung
	48 „	„	„ „	dgl.	dgl.	dgl.	„	„	„	„
	4×24 Std.	„	„ „	„	„	„	„	„	„	„
	10×24 „	„	„ „	„	„	„	„	„	„	„
	15×24 „	„	„ „	„	„	„	„	„	„	„
	22×24 „	„	„ „	„	„	„	„	„	„	„
Lackmus-Milchzucker-lösung (nach Barsiekow)	24 Stunden	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	Rötung, Gas	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert
	48 „	„	„	„	„	„ „	„	„	„	„
	4×24 Std.	„	„	„	„	„ „	„	„	„	„
	10×24 „	„	„	„	„	„ „	„	„	„	„
	15×24 „	„	„	„	„	„ „	„	„	„	„
	22×24 „	„	„	„	„	„ „	„	„	„	„
Lackmus-Traubenzucker-lösung (nach Barsiekow)	24 Stunden	Rötung	Rötung	Rötung, Gas	Rötung, Gas	Rötung, Gas	Rötung	Rötung	Rötung	Rötung
	48 „	„	„	„ „	„ „	„ „	„	„	„	„
	4×24 Std.	„	„	„ „	„ „	„ „	„	„	„	„
	10×24 „	„	„	„ „	„ „	„ „	„	„	„	„
	15×24 „	„	„	„ „	„ „	Ger., Rötung, Gas	„	„	„	„
	22×24 „	„	„	„ „	„ „	dgl.	„	„	„	„
Lackmus-Mannit-Nutrose-lösung	24 Stunden	geringe Rötung	ger. Rötung, Gas	Rötung, Gerinnung, Gas	Rötung, Gerinnung, Gas	Rötung, Gerinnung, Gas	unverändert	Rötung	Rötung	Rötung
	48 „	Rötg. stärker	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	„	„	„	Ger., Rötung
	4×24 Std.	„ „	„	„	„	„	„	Ger., Rötung	„	„ „
	10×24 „	Ger., Rötung	Ger., Gas	„	„	„	„	„ „	„	„ „
	15×24 „	„ „	„ „	„	„	„	„	„ „	Ger., Rötung	„ „
	22×24 „	„ „	„ „	„	„	„	„	„ „	„ „	„ „

Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nährboden und Beobachtungszeit		Y 1439 a	Y 1439 b	Y 1536	Y 1537	DH	Strong	Y	Coli 1662
Kartoffel	24 Stunden	gelbweiß	gelbweiß	gelbweiß	gelbweiß	schmutzig-gelb dgl.	gelbweiß, saftig dgl.	graugelb, schmutzig dgl.	gelblich, saftig dgl.
	48 "	"	"	"	"				
	4×24 Std.	Belag überall zugenommen, Färbung intensiver							
	10×24 "								
	15×24 "								
	22×24 "								
Bouillon	24 Stunden	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung
	48 "	"	"	"	"	"	"	"	"
	4×24 Std.	"	"	"	"	"	"	"	"
	10×24 "	"	"	"	"	"	"	"	"
	15×24 "	"	"	"	"	"	"	"	"
	22×24 "	"	"	"	"	"	"	"	"
Milch	24 Stunden	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	Gerinnung
	48 "	"	"	"	"	"	"	"	"
	4×24 Std.	"	"	"	"	"	"	"	"
	10×24 "	"	"	"	"	"	"	"	"
	15×24 "	"	"	"	"	"	"	"	"
	22×24 "	"	"	"	"	"	"	"	"
Lackmusmolke (Petruschky)	24 Stunden	wie Typhus	stark rot	stark rot	stark rot	stark rot	stark rot	stark rot	ziegelrot
	48 "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	" "	"
	4×24 Std.	stärker rot	" "	" "	" "	weniger rot	" "	" "	"
	10×24 "	wie Typhus	ziegelrot	fast wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	fast wie Kontrolle	"
	15×24 "	wie Kontrolle	"	wie Kontrolle	stärker blau als Kontrolle	stärker blau als Kontrolle	" "	wie Kontrolle	"
	22×24 "	mehr blau als Kontrolle	Rötung etwas geringer	stärker blau als Kontrolle	dgl.	dgl.	stark rot	stärker blau als Kontrolle	"

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nährboden und Beobachtungszeit		Y 1439 a	Y 1439 b	Y 1536	Y 1537	DH	Strong	Y	Coli 1662	
Neutralrot-agar	24 Stunden	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	Gas, Fluoreszenz	
	48 „	„	„	„	„	„	„	„	dgl.	
	4×24 Std.	„	„	„	„	„	„	„	„	
	10×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	
	15×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	
	22×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	
Traubenzucker-bouillon (1 Proz.)	24 Stunden	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung, sehr viel Gas	
	48 „	„	„	„	„	„	„	„	dgl.	
	4×24 Std.	„	„	„	„	„	„	„	„	
	10×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	
	15×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	
	22×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„	
Lackmus-Milchzucker-lösung (nach Barsiekow)	24 Stunden	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	Rötung, Gas	in Gärungskölbchen
	48 „	„	„	„	„	„	„	„	„ „	
	4×24 Std.	„	„	„	„	„	„	„	„ „	
	10×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„ „	
	15×24 „	„	„	„	„	„	geringe Rötg.	„	„ „	
	22×24 „	„	„	„	„	„	„ „	„	„ „	
Lackmus-Traubenzucker-lösung (nach Barsiekow)	24 Stunden	Rötung	Rötung	Rötung	Rötung	Rötung	Rötung	Rötung	Rötung, Gas	
	48 „	„	„	„	„	„	„	„	„ „	
	4×24 Std.	„	„	„	„	„	„	„	„ „	
	10×24 „	„	„	„	„	„	„	„	„ „	
	15×24 „	„	„	„	„	„	„	„	Ger., Rötung Gas	
	22×24 „	„	„	„	„	„	„	„	dgl.	
Lackmus-Mannit-Nutroselösung	24 Stunden	Rötung	Rötung	Rötung	Rötung	Rötung, Gerinnung	Rötung, Gerinnung	Rötung	Rötung, Gerinnung, Gas	in Gärungskölbchen
	48 „	„	Ger., Rötung	Ger., Rötung	Ger., Rötung	dgl.	dgl.	Ger., Rötung	dgl.	
	4×24 Std.	Ger., Rötung	„ „	„ „	„ „	„	„	„ „	„	
	10×24 „	„ „	„ „	„ „	„ „	„	„	„ „	„	
	15×24 „	„ „	„ „	„ „	„ „	„	„	„ „	„	
	22×24 „	„ „	„ „	„ „	„ „	„	„	„ „	„	

Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Die Prüfung der Stämme bezüglich ihrer Säurebildung in flüssigen Nährmedien haben wir bei der gewöhnlichen Bouillon, der 1-proz. Traubenzuckerbouillon und der Petruschkyschen Lackmusmolke vorgenommen; das Verfahren dabei war folgendes:

Die Nährböden wurden in genügendem Quantum in der üblichen Weise hergestellt, in sterile Reagensgläser aus Jenaer Glas zu je 5 ccm Menge eingefüllt und dann zur Prüfung auf ihre Sterilität für 24 Std. in den Brutschrank bei 37° C gestellt. Am nächsten Tage wurden die nicht steril gebliebenen Reagensröhrchen entfernt und jedesmal 10 der steril gebliebenen mit je einer Normalöse jeder der 17 Stämme beimpft. 10 Kontrollröhrchen blieben unbeimpft. Die Prüfung auf die in den Röhrchen beim Wachstum der Bakterien gebildeten Säure vollzog sich nun so, daß an jedem Prüfungstage ein Röhrchen jedes Stammes dem Brutschrank entnommen, in sterile Bechergläser geschüttet und dann mit $^1/_{100}$ Normalsalzsäure bezw. $^1/_{100}$ Normalnatronlauge titriert wurde. Bei der Lackmusmolke hatte man den Farbenton des Kontrollröhrchens, auf den die übrigen eingestellt wurden; bei der Bouillon und der Traubenzuckerbouillon fügten wir einige Tropfen Phenolphthaleïn hinzu und gaben dann so viel $^1/_{100}$ Normalnatronlauge hinzu, bis ein deutlich rötlicher Farbenschein auftrat; die dabei am Kontrollröhrchen verbrauchte Natronlauge wurde natürlich beim Titrieren der anderen Stämme in Rechnung gezogen. Wurde von einem Stamme statt Säure Alkali gebildet, so trat das Vorzeichen — vor die betreffende Zahl (s. Tabelle VI).

Um die Ergebnisse dieser Säureprüfungen richtig zu würdigen, muß man die Zusammensetzung der einzelnen Nährmedien näher berücksichtigen. In einem zuckerreichen Nährboden werden Stämme, die reichlich Zucker fermentieren, Säure bilden, in einem eiweißreichen dagegen mehr Alkali, da die Kohlehydrate zu Säure, die Eiweißstoffe nach dem Ammoniak hin abgebaut werden. Die Lackmusmolke enthält als Hauptkohlehydrat Milchzucker. Es werden demnach auf diesem Nährboden die Milchzuckervergärer wie Coli und Coli 1662 die meiste Säure bilden; dann folgt Strong, der, wie wir später sehen werden, vom 3. Tage an Milchzucker vergärt. Die Stämme Typhus, Paratyphus B, Ent. Gärtner und die übrigen Dysenteriestämme bilden anfangs geringe Mengen Säure, gehen aber allmählich durchweg zur Alkalibildung über. Im Gegensatz hierzu überwiegt bei Paratyphus A, Coli, Coli 1662 und Strong dauernd die Säurebildung.

In Bouillon kommt nur in den ersten Tagen entsprechend dem geringen Gehalt an Kohlehydraten Säurebildung vor. Die am lebhaftesten wachsenden Stämme wie Coli, Coli 1662 und DH haben sogar nach 24 Stunden erhebliche Mengen Alkali gebildet, da die geringen Zuckermengen in Bouillon binnen kurzem vergoren werden und nun ein rein eiweißhaltiger Nährboden vorliegt, der dann nach der alkalischen Seite ausschlägt. So erklärt sich, daß Coli in Lackmusmolke am meisten Säure, in Bouillon am meisten Alkali bildet.

In 1-proz. Traubenzuckerbouillon bildet sogar Typhus in den ersten 24 Stunden am meisten Säure, die übrigen je nach ihrem Gärvermögen und ihrer Wachstumsenergie geringere Mengen.

Nach ungefähr 3×24 Stunden bildet sich ein Gleichgewichtszustand aus, so daß die Säuremenge nunmehr konstant bleibt. Es ist ja be-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VI.

Tage	Ty 1524	A	B	G.	Coli	Kr.	Fl.	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str.	Y	1662	Kontr.
Säureprüfung in Lackmusmolke (Petruschky).																		
1	0,3	0,7	2,9	2,5	6,0	±	0,1	0,2	1,9	0,4	2,4	3,6	1,0	2,3	4,1	0,7	6,9	±
2	±	1,1	3,3	3,2	6,8	— 0,7	— 0,4	— 0,1	2,5	±	2,6	2,8	2,0	3,3	0,9	3,3	7,8	±
3	— 0,2	1,4	2,7	0,4	7,1	— 0,2	— 0,2	— 0,5	3,3	±	2,3	1,5	2,9	1,3	0,2	0,7	6,8	±
4	— 0,2	2,7	2,8	0,8	6,9	±	0,2	— 0,3	2,6	±	1,4	2,2	3,3	2,2	1,8	2,6	7,0	±
5	±	2,1	1,1	±	7,7	— 0,9	±	— 0,3	1,5	— 0,2	2,3	0,5	2,1	0,2	0,2	2,6	6,6	±
7	0,5	3,4	— 0,4	— 0,4	6,8	— 0,3	— 0,6	±	2,3	— 0,1	1,6	0,2	— 0,5	— 0,1	3,8	2,3	6,1	±
10	±	3,2	— 1,3	— 1,9	8,7	— 0,7	— 0,6	0,8	±	— 0,1	0,3	1,7	0,5	±	4,3	2,5	6,9	±
13	±	3,6	— 1,5	— 1,0	6,6	0,3	— 0,6	0,6	— 0,5	— 0,1	1,8	— 0,6	— 0,7	— 0,7	3,8	— 0,1	6,6	±
17	0,3	3,7	— 1,0	— 1,6	5,6	— 0,4	±	0,5	— 0,6	0,2	— 0,7	— 0,5	— 0,6	— 0,3	3,5	±	6,5	±
Säureprüfung in Bouillon.																		
1	3,5	1,6	— 2,9	0,6	— 1,3	1,0	0,6	0,2	— 0,8	1,8	0,1	0,3	— 0,3	2,7	0,1	— 0,8	— 3,0	7,2
2	1,0	1,8	— 5,4	— 1,5	— 4,8	0,2	0,9	1,0	— 2,4	2,1	— 0,4	— 1,6	— 1,0	4,1	— 2,0	— 0,6	— 4,0	7,0
3	0,6	1,6	— 3,6	— 1,1	— 3,7	1,3	2,3	1,5	— 2,6	2,5	±	— 2,0	— 3,2	— 0,2	— 3,0	0,1	— 4,1	5,7
4	— 1,5	0,9	— 7,2	— 8,2	— 4,3	— 8,0	0,9	— 0,4	— 4,2	1,7	— 0,2	— 5,0	— 5,2	— 0,4	— 7,2	— 3,7	— 5,0	7,2
5	— 1,4	0,8	— 9,6	— 4,2	— 7,7	— 2,3	1,3	— 1,5	— 6,5	2,2	— 0,1	— 6,5	— 6,7	0,2	— 6,3	— 1,1	— 6,0	7,2
7	— 3,3	— 1,3	— 10,7	— 8,6	— 10,1	— 4,7	0,4	— 4,6	— 6,7	0,8	— 1,4	— 6,5	— 6,8	— 0,9	— 8,2	— 1,3	— 8,8	7,3
10	— 7,5	— 7,9	— 9,9	— 11,5	— 8,2	— 7,7	— 3,4	— 1,6	— 12,0	0,5	— 2,3	— 6,6	— 8,7	— 8,1	— 9,4	— 5,8	— 13,2	7,5
13	— 12,0	— 5,4	— 10,2	— 9,5	— 10,6	— 8,9	— 7,3	— 5,4	— 8,3	— 0,2	— 5,2	— 8,5	— 11,9	— 9,2	— 10,9	— 6,6	— 10,8	8,5
17	— 10,0	— 8,5	— 11,8	— 10,2	— 10,3	— 9,2	— 9,6	— 4,8	— 8,8	— 2,3	— 5,9	— 9,2	— 8,6	— 9,5	— 10,0	— 9,6	— 9,9	8,2
Säureprüfung in 1-proz. Traubenzuckerbouillon.																		
1	8,8	3,7	4,3	5,7	4,8	1,5	1,5	2,9	1,4	1,4	0,9	2,2	±	4,0	4,0	2,2	4,8	17,5
2	9,0	10,3	11,6	13,7	13,1	8,3	8,7	8,0	8,2	8,5	7,8	9,0	8,5	9,7	8,3	7,5	13,8	12,0
3	8,2	11,0	12,0	13,0	14,0	8,5	8,5	9,1	8,0	8,4	7,1	9,0	8,2	8,4	9,2	8,3	14,7	11,0
4	7,8	9,9	11,1	11,9	13,6	7,2	8,3	8,0	9,0	8,0	7,5	8,5	8,5	6,9	9,1	7,9	10,4	12,0
5	8,5	10,0	11,0	12,0	13,0	9,0	8,8	8,2	8,9	8,0	9,4	7,5	9,0	7,5	8,5	9,3	14,4	11,0
7	7,3	10,7	10,8	11,0	13,7	8,2	9,5	7,5	8,9	8,2	7,8	9,0	8,8	6,5	9,0	8,5	13,3	12,0
10	7,9	9,7	10,8	11,5	13,0	6,9	9,9	8,4	8,9	8,4	7,9	9,1	8,2	7,8	9,4	8,4	13,9	12,0
13	7,9	9,5	10,4	11,2	12,8	6,6	8,1	8,5	8,4	7,5	7,8	9,0	7,5	6,5	8,2	8,5	13,0	12,0
17	6,7	9,1	9,2	10,9	12,4	6,0	7,2	7,0	8,0	6,5	6,2	7,8	7,5	6,0	6,0	6,5	12,0	13,1

Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

kannt, daß stärkere Säurekonzentration die säurebildende Fermentwirkung hemmt und die eiweißspaltende Kraft wieder mehr in Tätigkeit tritt, bis sich eine Art Gleichgewichtszustand einstellt, wo sich beide Fermentbildungen die Wage halten. Die geringen Schwankungen in den bestimmten Säuremengen liegen bei Verwendung von nur $^1/_{100}$ Normalnatronlauge wohl innerhalb der Fehlergrenzen. Am meisten Säure bildet wiederum Coli und Coli 1662, dann folgen Paratyphus A, B, Gärtner. Typhus und Dysenterie verhalten sich annähernd gleich. Vergleicht man später die Prüfung auf Gärvermögen gegenüber Kohlenhydraten, so hat man den Eindruck, daß je mehr Zuckerarten die einzelnen Stämme zu vergären vermögen, um so stärker auch die Säurebildung in Traubenzuckerbouillon in Erscheinung tritt.

Um das Reduktionsvermögen der Stämme Farbstoffen gegenüber kennen zu lernen, haben wir uns, analog dem bekannten Neutralrotagar von Rotberger, ähnliche Nährböden hergestellt, nur daß jedesmal statt der Neutralrotlösung eine solche von Methylenblau, Fuchsin, Vesuvin, Chrysoidin oder Safranin hinzugefügt wurde, und zwar immer zu 100 Teilen Agar 1 Teil einer kalt gesättigten, wässerigen Lösung der Farben. Gleichzeitig wollten wir sehen, ob einer dieser farbigen Nährböden in ähnlicher oder besserer Weise wie der Neutralrotagar geeignet sein würde, kulturelle Merkmale und Farbenveränderungen hervortreten zu lassen. Das Wachstum der 17 Stämme auf derartig hergesteltem Agar war folgendes

Tabelle VII.

Nährboden	Tage	Typhus 1524	Paratyphus A	Paratyphus B	Gärtner	Coli	Kruse
Methylenblauagar	1	oberer blauer Ring 4—5 mm breit	Gas, oberer blauer Ring 3—6 mm br.	Gas, oberer blauer Ring 3 mm br.	Gas, oberer blauer Ring 3 mm br.	Gas, oberer blauer Ring 2—3 mm br.	oberer blauer Ring 7 mm breit
dgl.	2	dgl. 7—9 mm	dgl. 7—10 mm	dgl. 5 mm	dgl. 4 mm	dgl. 5 mm	dgl. 10 mm
„	3	„ 10 „	„ 10—15 „	„ 5 „	„ 5 „	„ 7 „	„ 10—12 „
„	4	„ 12 „	„ 17—18 „	„ 5—6 „	„ 5 „	„ 10 „	„ 10—13 „
„	7	„ 11 „	„ 23—26 „	„ 5—6 „	„ 10 „	„ 15—20 „	„ 12—13 „
„	17	„ 12—13 „	„ 32—35 „	„ 8—10 „	ganze Röhrchen blau	ganz blau	„ 15—16 „
Vesuvinagar	1	wie Kontr.	Gas, sonst wie Kontrolle	Gas, sonst wie Kontr.	Gas, sonst wie Kontr.	Gas, sonst wie Kontr.	wie Kontr.
„	2	„ „	dgl.	Gas, Entfärbung	Gas, geringe Entfärbung	Gas, geringe Entfärbung	„ „
„	3	dunkler wie Kontr.	Gas, dunkler wie Kontr.	dgl.	dgl.	dgl.	dunkler wie Kontr.
„	4	dgl.	dgl.	„	„	„	dgl.
„	7	„	Gas, unten etwas entfärbt	„	„	„	„
„	17	„	dgl.	oben wieder mehr braun	oben wieder mehr braun	oben wieder mehr braun	„
Safraninagar	1	wie Kontr.	Gas, sonst wie Kontrolle	Gas, sonst wie Kontr.	Gas, sonst wie Kontr.	Gas, sonst wie Kontr.	wie Kontr.
„	2	„ „	Gas, Entfärb. Fluoreszenz	Gas, stark entfärbt	Gas, stark entfärbt	Gas, stark entfärbt	„ „
„	3	„ „	dgl. stärker	Fluoreszenz	Fluoreszenz	Fluoreszenz	„ „
„	4	„ „	„ „	„	„	„	„ „
„	7	„ „	oben röter	„	„	„	unten Spur heller
„	17	„ „	oben rot, unten entfärbt	oben röter	oben röter	oben röter	dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nährboden	Tage	Flexner	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536
Methylen-blauagar	1	oberer blauer Ring 3 mm breit	oberer blauer Ring 4—5 mm breit	oberer blauer Ring 6—7 mm breit	oberer blauer Ring 4—5 mm breit	oberer blauer Ring 6—7 mm breit	oberer blauer Ring 4—5 mm breit
dgl.	2	dgl. 7 mm	dgl. 7 mm	dgl. 6—7 mm	dgl. 7 mm	dgl. 7—8 mm	dgl. 6—7 mm
„	3	„ 7 „	„ 8 „	„ 7 „	„ 7 „	„ 7—8 „	„ 7 „
„	4	„ 7—8 „	„ 8—9 „	„ 7—8 „	„ 8 „	„ 7—9 „	„ 7—8 „
„	7	„ 7—8 „	„ 10—11 „	„ 8—9 „	„ 9 „	„ 10—11 „	„ 8 „
„	17	„ 10—11 „	„ 13 „	„ 9—10 „	„ 10 „	„ 11 „	„ 10 „
Vesuvinagar	1	wie Kontr.	wie Kontr.	wie Kontr.	wie Kontr.	wie Kontr.	wie Kontr.
„	2	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
„	3	dunkler wie Kontr.	dunkler wie Kontr.	dunkler wie Kontr.	dunkler wie Kontr.	dunkler wie Kontr.	dunkler wie Kontr.
„	4	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
„	7	„	„	„	„	„	„
„	17	„	„	„	„	„	„
Safraninagar	1	wie Kontr.	wie Kontr.	wie Kontr.	wie Kontr.	wie Kontr.	wie Kontr.
„	2	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
„	3	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
„	4	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
„	7	unten Spur heller	unten Spur heller	unten Spur heller	unten Spur heller	unten Spur heller	unten Spur heller
„	17	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.

Nährboden	Tage	1537	DH	Strong	Y	1662	Kontrolle
Methylen-blauagar	1	oberer blauer Ring 5 mm breit	oberer blauer Ring 4 mm breit	oberer blauer Ring 4 mm breit	oberer blauer Ring 5 mm breit	Gas, oberer blauer Ring 2—3 mm br.	blau
dgl.	2	dgl. 7 mm	dgl. 7 mm	dgl. 7 mm	dgl. 8 mm	dgl. 4 mm	„
„	3	„ 7—8 „	„ 8 „	„ 7 „	„ 8—9 „	„ 4 „	„
„	4	„ 8 „	„ 8 „	„ 8 „	„ 9 „	„ 4 „	„
„	7	„ 8 „	„ 8—9 „	„ 8 „	„ 12 „	„ 5 „	„
„	17	„ 10 „	„ 12 „	„ 10 „	„ 13 „	„ 6—7 „	„
Vesuvinagar	1	wie Kontr.	wie Kontr.	wie Kontr.	wie Kontr.	Gas, sonst wie Kontr.	unverändert
„	2	„ „	„ „	„	„ „	Gas, geringe Entfärbung	„
„	3	dunkler wie Kontr.	dunkler wie Kontr.	dunkler wie Kontr.	dunkler wie Kontr.	„	„
„	4	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	„	„
„	7	„	„	„	„	„	„
„	17	„	„	„	„	„	„
Safraninagar	1	wie Kontr.	wie Kontr.	wie Kontr.	wie Kontr.	Gas, sonst wie Kontr.	unverändert
„	2	„ „	„ „	„ „	„ „	Gas, geringe Entfärbung	„
„	3	„ „	„ „	„ „	„ „	Fluoreszenz	„
„	4	„ „	„ „	„ „	„ „	„	„
„	7	oben Spur heller	oben dunkel-gelber Ring	heller wie Kontr.	heller wie Kontr.	„	„
„	17	dgl.	oben roter Ring, unten fast entfärbt	oben roter Ring, unten entfärbt	oben roter Ring, Spur entfärbt	„	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aehnlich wie die Unterschiede zwischen gasbildenden und nicht gasbildenden Bakterien im Neutralrotagar zutage treten, waren sie auch im Vesuvin-, Chrysoidin- und Safraninagar zu verzeichnen, während die Merkmale im Fuchsinagar sehr wenig deutlich hervortraten.

Im Neutralrotagar zeigten DH und Strong vom 7. Beobachtungstage ab im oberen Drittel des Röhrchens etwas Fluoreszenz, ohne sonst den Nährboden irgendwie zu verändern.

Im Chrysoidinagar bildete Paratyphus A merkwürdigerweise kein Gas, sondern machte nur vom 7. Tage ab geringe Entfärbung. Statt der Fluoreszenz, wie sie im Neutralrotagar kenntlich wird, trat hier bei den analogen Stämmen (Paratyphus B, Gärtner, Coli und Coli 1662) nur Entfärbung auf.

Die Entfärbung in der Tiefe der Methylenblauröhrchen beruhte auf einer Reduktion des Farbstoffes infolge des Bakterienwachstums. Durch Berührung mit dem Sauerstoff der Luft wurde die entstandene Leukobase in die gefärbte Oxydationsstufe übergeführt, deshalb entstand im oberen Drittel des Röhrchens ein blauer Farbenring im Agar. Auch in der Tiefe der Röhrchen unter O-Mangel oder -Abschluß fand die Vergärung des Zuckers oder Zersetzung des Eiweißes in demselben Maße statt, wie bei Gegenwart von Sauerstoff.

Keiner der farbigen Nährböden brachte also kulturelle Merkmale oder Farbenveränderungen in besserer Weise zum Ausdruck wie der Neutralrotagar.

Der Indolnachweis wurde in 1-proz. Peptonwasser angestellt; zu etwa 10 ccm Kultur wurde zugesetzt: Je 1 ccm 0,02-proz. Kaliumnitritlösung (Kal. nitros. in bac. E. Merck) und je 1 ccm 3-fach verdünnter, reiner H_2SO_4; nach Mischung blieben die Röhrchen $^1/_2$ Stunde im Zimmer, und eine etwa aufgetretene Rotfärbung wurde sofort vermerkt; dann erhielten sie einen Zusatz von 2—3 ccm Amylalkohol, wurden kräftig geschüttelt und nochmals abgelesen, wenn der Alkohol sich als besondere Schicht auf dem Peptonwasser gesammelt hatte; ging die rote Farbe nicht in den Amylalkohol über, so war die Reaktion negativ.

In einer zweiten Versuchsanordnung wurden dieselben Stämme nach der Ehrlichschen Methode geprüft; zu diesem Zwecke wurden zwei verschiedene Lösungen hergestellt:

I.	Paradimethylamidobenzaldehyd	4,0
	96-proz. Alkohol	380,0
	Salzsäure	80,0
II.	Gesättigte, wässerige Lösung von Kaliumpersulfat ($K_2S_2O_8$).	

Zu 10 ccm flüssiger Kulturmenge wurden unter Schütteln 5 ccm der Lösung I und dann 5 ccm der Lösung II hinzugefügt. Etwaige Indolbildung machte sich fast augenblicklich durch deutliche Rotfärbung kenntlich; auch hier wurden die Röhrchen noch mit Amylalkohol ausgeschüttelt. Das Resultat dieser Versuche veranschaulicht Tabelle VIII.

Durch keine der angeführten Methoden gelang es, bei Typhus, Paratyphus A und B, dem Gärtner- und dem Shiga-Kruse-Stamm während einer Beobachtungszeit von 24 Tagen auch nur Spuren von Indol nachzuweisen. Die Stämme Coli, DH, Strong und Coli 1662 bildeten ungefähr gleichmäßig am 4. Tage deutlich Indol, während die anderen Dysenteriestämme frühestens am 9. Tage (Y 1412b, Y 1439b, Y 1536 und Y 1537) Rötung zeigten, spätestens am 24. (Flexner). Es

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VIII.
Indolprüfung nach Ehrlich.

Beobachtungszeit	Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412a	1412b	1439a	1439b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
24 u. 48 Std.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—[1]	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4×24 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+
6×24 „	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+ schw.	+ schw.	—	+ schw.
	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+
9×24 „	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+ schw.	+ schw.	—	+
	—	—	—	—	+	—	—	—	+ schw.	—	+ schw.	+ schw.	+ schw.	+	+	—	+
13×24 „	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+ schw.	—	+	+	+ schw.	+
	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+
24×24 „	—	—	—	—	+	—	+schw.[2]	+ schw.	+ schw.	+ schw.	—	+	+	+	+	+	+
	—	—	—	—	+	—	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+

Indolprüfung mit KNO_3 und H_2SO_4.

Beobachtungszeit	Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412a	1412b	1439a	1439b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
24 u. 48 Std.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4×24 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6×24 „	—	—	—	—	+ schw.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+ schw.	+ schw.	—	+ schw.
9×24 „	—	—	—	—	+ schw.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+
13×24 „	—	—	—	—	+ schw.	—	—	—	—	—	—	—	—	+ schw.	+ schw.	—	+ schw.
	—	—	—	—	+	—	—	—	+ schw.	+ schw.	—	+	+	+	+	+	+
24×24 „	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+
	—	—	—	—	+	—	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+

1) In jeder Rubrik bedeutet das untere Zeichen das Resultat nach Ausschütteln mit Amylalkohol.
2) schw. = schwach.

Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

geht außerdem aus den Versuchen die erheblich bessere Leistung der Ehrlichschen Methode hervor, insofern als der Indolnachweis bei ihr erstens nach kürzerer Zeit gelang, und zweitens dadurch auch kleinere Indolmengen nachgewiesen werden konnten als nach der alten Methode, wie sie Kitasato-Salkowsky ursprünglich angegeben haben (zu 10 ccm Kultur je 1 ccm 0,02-proz. Kaliumnitritlösung und H_2SO_4 [1 Teil + 3 Teile Aqua dest.]); letztere versagte z. B. beim Indolnachweis des Stammes Y 1439 b vollkommen. Eine gute Hilfe bei beiden Versuchsarten bildet das Ausschütteln mit Amylalkohol. Zu ähnlichen besseren Resultaten der Ehrlichschen Methode gelangten Marschall, Loesener u. a. Allerdings liefert der Indolnachweis mit KNO_3 und H_2SO_4 nach der Angabe von Konrich mindestens ebenso gute, ja bessere Ausschläge wie der von Ehrlich angegebene, wenn die KNO_3-Menge auf 0,005 Proz. verringert wird; hiermit haben wir keine Versuche angestellt. Crossonini gibt eine modifizierte Ehrlichsche Ueberschichtungsmethode an, die angeblich noch bessere Resultate liefern soll, von uns aber ebenfalls nicht benutzt worden ist.

Der Proteinochromnachweis wurde folgendermaßen geführt: 5-proz. Peptonbouillonröhrchen wurden mit den einzelnen Stämmen in gleicher Menge von 1 Normalöse beimpft und in den Brutschrank gestellt. An den einzelnen Versuchstagen wurde je ein Stamm mit verdünnter Essigsäure angesäuert und dann mit frischem Chlorwasser überschichtet; es trat an der Berührungsstelle bei Anwesenheit von Proteinodurom ein

Tabelle IX.

Beobachtungszeit	Prüfung auf								
	Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b
24 Stunden	— —[1]	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
2×24 Std.	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
4×24 „	— —	— —	+ schw.[2] —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
6×24 „	+ —	+ —	+ —	+ —	— —	— —	— —	— —	— —
9×24 „	+ —	+ —	+ —	+ —	— —	+ schw. —	— —	— —	— —
13×24 „	+ —	+ —	+ + schw.	+ —	— —	+ —	— —	— —	— —
24×24 „	— —	— —	+ schw. —	+ schw. —	— —	— —	— —	— —	— —
28×24 „	+ —	+ —	+ —	+ —	— —	+ —	— —	— —	— —
34×24 „	+ —	+ —	+ —	+ —	— —	+ —	— —	— —	— —
36×24 „	+ —	+ —	+ —	+ —	— —	+ —	— —	— —	— —

1) In jeder Rubrik bedeutet das untere Zeichen das Resultat nach Ausschütteln mit Amylalkohol.
2) schw. = schwach.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rötlicher Farbenring auf. Das Chlorwasser war gesättigt und stets frisch; es wurde dadurch gewonnen, daß die Chlordämpfe aus einer Mischung von Braunstein, Kochsalz und Schwefelsäure entwickelt und in eine dunkle Flasche destillierten Wassers geleitet wurden, bis dasselbe eine gelbliche Farbe annahm, so daß sein Chlorgehalt annähernd stets der gleiche war. Die Reaktion der einzelnen Stämme auf diese Probe war folgende (s. Tabelle IX).

Es zeigte sich also, daß diejenigen Stämme, welche kein Indol bildeten, am frühesten und deutlichsten die Proteïnochromreaktion gaben, also Typhus, Paratyphus A, B, Gärtner, Shiga-Kruse, und zwar vom 6. Tage ab; von den anderen Dysenteriestämmen waren nur noch Y 1439a, Y 1439b und Y positiv. Die Reaktion trat nur beim Ueberschichten mit Chlorwasser auf; jeder Versuch, dieselbe durch Amylalkohol ähnlich wie beim Indolnachweis stärker hervortreten zu lassen, scheiterte, es wurde sogar dadurch der anfänglich positive Ausschlag unsichtbar gemacht.

Das Proteïnochrom oder Proteïnochromogen entsteht bekanntlich durch Zerfall von Eiweißstoffen bei Anwesenheit von Chlor oder Brom, und zwar um so eher und stärker, je mehr Eiweiß der Nährboden enthält; deswegen haben wir auch nach den Empfehlungen von Erdmann einer 5-proz. Peptonbouillon den Vorzug gegeben. Die Coli-Stämme bildeten nie Proteïnochrom, was mit den Angaben Erdmanns übereinstimmt, nur gaben unser Typhus- und der Gärtner-Stamm durchweg

Tabelle IX.

Proteinochrom.

1439a	1439b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	+ schw.	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	+	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	+ schw.	—	—	—	—	+	—
—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	—	—	—	—	+	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	—	—	—	—	+	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	—	—	—	—	+	—
—	—	—	—	—	—	—	—

später den positiven Ausschlag (erst vom 6. Tage ab) als nach seinen Untersuchungen (Typhus nach 2, Gärtner nach 4 Tagen).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

III. Vergärung von Kohlehydraten.

Alle diejenigen Forscher, welche sich mit dieser Frage beschäftigt haben, kommen zu dem Resultat der außerordentlichen Inkonstanz der Ruhrbacillen gegenüber der Vergärung von Kohlehydraten. Am wenigsten wechselnd scheint in dieser Beziehung der Shiga-Kruse-Typus zu sein, am stärksten die Bacillen des Typus Y und Flexner. Bei letzteren erscheint es unwillkürlich, als wenn bei ihnen fast alle Schattierungen in dem Verhalten gegen Kohlehydrate zu erreichen sind. So fand Twort, daß ein Kruse- und Flexner-Stamm durch längere Fortzüchtung in 2-proz. Saccharose- und Laktosepeptonlösungen die Fähigkeit gewannen, diese Zucker zu vergären.

Die Untersuchungen von His, Kruse, Shiga und Lentz ergaben, daß längere Zeit auf künstlichen Nährböden fortgezüchtete Y-Stämme Maltose vergoren, also in dem Verhalten gegen diesen Zucker sich vollständig mit dem Flexner-Typus deckten. Lentz selbst sieht in dieser Tatsache lediglich eine Alterserscheinung und Anpassung an die veränderten Lebensbedingungen. Da sich nun aber sowohl im Komplementablenkungsversuch, der Agglutination als auch im Absorptionsversuch gerade die Typen Y und Flexner des öfteren vollständig gleich verhalten und die Differentialdiagnose dieser Bacillen allein durch ihre kulturellen Eigenschaften gegenüber Kohlehydraten bei frischer Züchtung aus Krankenmaterial ermöglicht ist, so war eine eingehende Untersuchung auf diesem Gebiet erwünscht, um möglichst charakteristische Merkmale der einzelnen Typen und ihre eventuelle Beeinflussung kennen zu lernen.

Zu diesem Zwecke wurden die gewonnenen Stämme Y 1412, 1439, 1536, 1537 und zum Vergleich die Stämme Kruse und Flexner auf ihr Gärungsvermögen gegenüber Mannit, Maltose, Saccharose, Milch- und Traubenzucker geprüft. Das Ergebnis war, daß sämtliche Stämme typisches Wachstum zeigten. Kruse ließ Mannit, die Y-Stämme Maltose und Flexner Saccharose, alle Stämme außerdem Milchzucker unverändert. Es wurden nun einmal die Stämme auf Schrägagar weiterverimpft, daneben Stamm Kruse in 2-proz. Mannitpeptonwasser (2 Proz. Mannit, 1 Proz. Pepton, 0,5 Proz. NaCl), Stamm Kruse, Flexner, 1412, 1439, 1536 und 1537 in Laktose- und Saccharosepeptonlösung und endlich Kruse, 1412, 1439, 1536 und 1537 in Maltosepeptonwasser fortgezüchtet. Es wurden also die Stämme immer in den Zuckerlösungen gehalten, die sie vorher unverändert ließen. Das Wachstum erfolgte bei 37°, die Ueberimpfung zuerst alle 3 Tage, später alle 6, dann alle 8 Tage. Dabei stellte sich heraus, daß der Stamm Shiga-Kruse in 2-proz. Mannitpeptonwasser nur äußerst dürftiges Wachstum bot. Wir gingen auf 1 Proz. Mannit herunter, aber trotz häufigen Ueberimpfens war es doch nicht möglich, den Stamm am Leben zu erhalten; er schied nach etwa $1^1/_2$ Monaten aus. Dagegen war das Wachstum desselben Shiga-Kruse-Stammes in Milch-, Maltose- und Saccharosepeptonwasser dauernd leidlich, die übrigen Stämme zeigten Zunahme ihres Wachstums, zumal die Y-Stämme in Maltoselösung. Von Zeit zu Zeit wurde Aussaat auf Agarplatten vorgenommen, um nach eventuellen Verunreinigungen zu fahnden. Hierbei wurde die Entdeckung gemacht, daß von ein und demselben Stamme deutlich in ihrer Größe verschiedene Kolonieen wuchsen. Bei einigen war dies so auffallend, daß diese getrennt abge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

impft, mit dem Originalstamm identifiziert und getrennt in den entsprechenden Zuckerlösungen weitergezüchtet wurden. Diese Trennung wurde mit I und II bezeichnet, wobei immer I die auf der Agarplatte größer wachsende Kolonie bedeutet, II die kleinere. Wir betonen, daß diese Unterabteilungen nicht denen entsprechen, deren Trennung auf der Gelatineplatte vorgenommen und mit a und b weitergeführt wurden, außerdem, daß es gar nicht in unserer Absicht lag, hier nach kleinen Differenzen im Wachstum zu suchen, sondern die Unterschiede waren so markant, daß ein Nichtbeachten uns direkt als Fehler vorgekommen wäre.

Nach 8 Monaten wurden nun sämtliche Stämme, sowohl die auf Agar fortgezüchteten als auch die Zuckerpeptonstämme außerdem zum Vergleich die Typhus-Coli-Gruppe, der noch ein Alcaligenes-Stamm beigefügt wurde, auf ihr Gärvermögen gegen eine größere Reihe von Kohlehydraten geprüft. Verwandt wurden die von Shiga angegebenen Lackmuspeptonzuckerlösungen, da bei der längeren Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden die störenden Reaktionen frischer Stämme durch ihre verschiedene Avidität zum Pepton und Zucker nicht mehr zu erwarten waren. Die Zuckerlösungen wurden in Gärungsröhrchen gefüllt, 48 Stunden bei 37° auf Sterilität geprüft, mit 1 Oese beimpft und während 5 Tagen beobachtet.

Um die Ergebnisse der Prüfung möglichst übersichtlich zu gestalten, empfahl es sich, von der Einteilung in Mono-, Di-, Tri- und Polysaccharide abzuweichen und mehr Ferment- und Fermentgruppenwirkungen als Richtschnur anzunehmen. Bei den Monosacchariden stimmen beide Richtungen noch überein. Wir kennen die gemeinsame Wirkung von Buchners Zymase auf die einfachen Hexosen. Emil Fischer suchte in diesen Gärungsmechanismus tiefer einzudringen und fand, daß die Hefezymase nur die Zucker angreift, die einen gewissen stereochemischen Bau aufweisen. Er ging aus von der Wirkung dieses Enzyms auf die synthetisch hergestellten Methylglykoside der betreffenden Zucker und gelangte zu dem interessanten Ergebnis, daß von den Hefen nur das α-Glykosid nicht die β-Form in den ursprünglichen Zucker gespalten wird. Das hat zu der Annahme des asymmetrischen Baues des Enzymmoleküls und dem Vergleich geführt: „Enzym- und Substanzmolekül müssen wie Schloß und Schlüssel aufeinander passen.“ Alle die Enzyme, welche die α-Form vergären, hat man dann α-Enzyme genannt. Hierzu gehören als Hauptvertreter: Cymase, Maltase, Invertase. Diejenigen Enzyme, die die β-Form angreifen, nennt man entsprechend β-Enzyme, deren typische Vertreter Laktase und Emulsin sind.

In der Tabelle X sollen demnach die Ergebnisse der Prüfungen an folgenden Zuckerarten zusammengestellt werden: an d-Mannose, d-Traubenzucker, d-Lävulose, d-Galaktose und an dem zur Mannose gehörigen 6-wertigen Alkohol Mannit. Es sind dies von den Monosacchariden diejenigen, die der Hefezymase Buchners zugänglich sind. Leider konnte, wie es ursprünglich in unserer Absicht lag, die Untersuchung der gebildeten Säuren und Gase aus äußeren Gründen nicht mehr durchgeführt werden, da die Arbeit zum Abschluß gebracht werden mußte. Es können hier also nur Vermutungen ausgesprochen und Analogieschlüsse gezogen werden.

Zum Teil liegen hierüber in der Literatur Angaben vor. Die reine Milchsäuregärung scheint danach bei den hier in Betracht kommenden

Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Stämmen äußerst selten vorzukommen. Vielmehr hat die Bestimmung der entwickelten Gase bei der Hogcholeragruppe neben Kohlensäure auch die Anwesenheit von Wasserstoff ergeben, so daß man von einer Wasserstoffgärung gesprochen hat. Yoshita-Sera wies bei Ruhrbacillen Essigsäure und Ameisensäure, gebildet aus Traubenzucker, nach.

Tabelle X.

Zucker	Mannit	Mannose	Trauben-zucker	Lävulose	Galaktose
Beobachtungstage	1—5	1—5	1—5	1—5	1—5
Alcaligenes	—	—	—	—	—
Typhus 1524	+	+	+	+	+
Paratyphus A	+	+	+	+ Gas	+
„ B					
Ent. Gärtner	+ Gas	+ Gas	+ Gas	+ Gas	+ Gas
Coli					
Shiga-Kruse	—	+	+	+	+
Flexner					
Y 1412 a					
Y 1412 b					
Y 1439 a					
Y 1439 b					
Y 1536	+	+	+	+	+
Y 1537					
DH					
Y					
Strong					
Coli 1662	+ Gas	+ Gas	+ Gas	+ Gas	+ Gas
Maltose Kruse	—	+	+	+	+
„ Y 1412 I					
„ Y 1412 II					
„ Y 1439 I					
„ Y 1439 II	+	+	+	+	+
„ Y 1536					
„ Y 1537					
Milchzucker Kruse	—	+	+	+	+
„ Flexner					
„ Y 1412 I					
„ Y 1412 II	+	+	+	+	+
„ Y 1439					
„ Y 1536					
„ Y 1537					
Saccharose Kruse	—	+	+	+	+
„ Flexner					
„ Y 1412					
„ Y 1439					
„ Y 1536 I	+	+	+	+	+
„ Y 1536 II					
„ Y1537					

Das, was zunächst bei Betrachtung der Tabelle X hervortritt, ist der verschiedene Grad der Vergärung. Bei Paratyphus A, B, Bac. enteritidis, Coli und Coli 1662 findet neben der Säurebildung Gasentwickelung statt. Der Prozeß verläuft also eingreifender als bei den übrigen Stämmen. Bac. alcaligenes läßt alle Zucker, Bac. Shiga-Kruse, wie es typisch für ihn ist, Mannit unverändert. Alle übrigen Stämme vergären sowohl Mannit als auch die 4 d-Hexosen: Trauben-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zucker, Lävulose, Mannose, Galaktose. Daß Paratyphus A nur Lävulose unter Gasbildung zersetzt, können wir uns nur dadurch erklären, daß dieser Stamm, der der Laboratoriumssammlung entnommen wurde, wahrscheinlich durch jahrelange Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden in seinem Gärvermögen beeinträchtigt worden ist.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß mit Ausnahme des Bac. alcaligenes sowohl die Typhus-Coli- wie auch die Ruhrgruppe die Hexosen vergärt, also Zymasebildung zeigt, analog der Wirkung der Hefezymase Buchners. Hiermit soll eine Identität beider Enzyme natürlich nicht angenommen werden. Auffallend ist, daß Bac. Shiga-Kruse Mannit unverändert läßt, während er sonst den Hexosen gegenüber kräftige Einwirkung zeigt. Es besteht jedenfalls die Möglichkeit, daß durch Mannit eine größere Schädigung der vitalen Funktionen dieses Stammes bewirkt wird, welche die notwendige Vermehrung und Fermentwirkung gar nicht zuläßt. Dafür würde sprechen, daß es uns nicht gelungen ist, in Mannitpeptonwasser den Stamm Shiga-Kruse längere Zeit fortzuzüchten.

In der zweiten Gruppe wurden folgende Zucker geprüft: Maltose, Dextrin, Amylum, Glykogen, Inulin, Lichenin, deren Ergebnisse in der Tabelle XI zusammengestellt sind. Wir gingen hierbei aus von der bekannten Wirkung der Maltase, Dextrinase, Diastase, kurz Amylomaltase, die in der Natur äußerst häufig vorkommt. Wenn wir auch hier aus den oben erwähnten Gründen die Untersuchung auf Vorhandensein dieser Enzyme oder Endoenzyme nicht mehr ausführen konnten, so glauben wir doch durch Betrachtung von diesem Gesichtspunkte aus einige charakteristische Merkmale in dem Gärungsvermögen unserer Stämme und ihre Veränderlichkeit damit klarer hervortreten zu lassen. Die Polysaccharide, Glykogen, Inulin, Lichenin wurden mitgeprüft, um auch etwaige Enzymwirkungen noch höheren Zuckern gegenüber zu prüfen (s. Tabelle XI).

Bevor wir uns den Ergebnissen, die in Tabelle XI angeführt sind, zuwenden, möchten wir nochmals betonen, daß bei frischer Züchtung aus dem Krankenmaterial sämtliche Y-Stämme Maltose unverändert ließen. Die Ergebnisse der Tabelle XI nach 8 Monaten ergibt folgendes:

Gar keine Wirkung zeigen Bac. alcaligenes, Shiga-Kruse und der Kontrollstamm Y. Bei diesen Stämmen ist demnach keine Veränderung aufgetreten. Typhus 1524 säuert Maltose und Dextrin, Paratyphus A, Maltose, Dextrin und Stärke, davon die beiden letzten unter Gasbildung; Paratyphus B und Enteritidis Gärtner vergären nur Maltose unter Gasbildung. Die beiden Coli-Stämme verhalten sich nicht gleichmäßig, der erste vergärt Maltose, Dextrin und Stärke, davon Maltose unter Gasbildung; der zweite Stamm 1662 nur Maltose und Dextrin mit Gasentwickelung. Von den Ruhrbacillen vergärt der Typus Flexner Maltose, Dextrin und vom 3. Tage an Amylum; ebenso verhalten sich die Y-Stämme 1412a, 1439a und DH; Y 1536 und Y 1537 vergären nur Maltose, Typus Strong Maltose und Dextrin. Die längere Fortzüchtung auf gewöhnlichem Schrägagar hat also bei den Stämmen Y 1412a, Y 1439a, 1536 und 1537 bewirkt, daß sie zu Maltosevergärern geworden sind; die beiden ersten zeigen sogar Wirkung gegenüber Dextrin und etwas schwächer gegen Amylum. Die Beobachtung, daß Y-Stämme durch längeres Fortzüchten auf künstlichen Nährböden Maltose vergären lernen, haben, wie eingangs erwähnt, auch andere Untersucher gefunden. Wie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XI.

Zucker	Maltose	Dextrin	Amylum	Glykogen	Inulin	Lichenin
Beobachtungstage	1—5	1—5	1—5	1—5	1—5	1—5
Alcaligenes	—	—	—	überall unverändert	überall unverändert	überall unverändert
Typhus 1524	+	+	—			
Paratyphus A	+	+ Gas	(—) + Gas[1]			
„ B	+ Gas	—	—			
Ent. Gärtner	+ Gas	—	—			
Coli	+ Gas	+	(—) +			
Shiga-Kruse	—	—	—			
Flexner	+	+	(—) +			
Y 1412 a	+	+	(—) +			
Y 1412 b	—	—	—			
Y 1439 a	+	+	(±) +			
Y 1439 b	—	—	—			
Y 1536	(—) +	—	—			
Y 1537	(—) +	—	—			
DH	+	+	(±) +			
Y	—	—	—			
Strong	+	+	—			
Coli 1662	+ Gas	+ Gas	—			
Maltose Kruse	+	unverändert				
„ Y 1412 I	+					
„ Y 1412 II	+					
„ Y 1439 I	(—) +					
„ Y 1439 II	(—) +					
„ Y 1536	+					
„ Y 1637	+					
Milchzucker Kruse	—	—	—	—	—	—
„ Flexner	+	+	(±) +	—	—	—
„ Y 1412 I	—	unverändert				
„ Y 1412 II	—					
„ Y 1439	—					
„ Y 1536	(—) +					
„ Y 1537	(—) +					
Saccharose Kruse	(—) +	—	—	—	—	—
„ Flexner	+	+	+	—	—	—
„ Y 1412	—	unverändert				
„ Y 1439	(±) +					
„ Y 1536 I	—					
„ Y 1536 II	—					
„ Y 1537	+					

wir sehen, kann sich auch die Wirkung auf Dextrin und Stärke erstrecken. In ihrem Gärvermögen nähern sich also diese Stämme denen des Typus Flexner.

Der Einfluß der Fortzüchtung in Maltosepeptonwasser ist klar zu erkennen. Sämtliche Stämme haben die Eigenschaft angenommen, Maltose zu vergären, sogar der Bac. Shiga-Kruse. Aber während ein Teil der auf Agar gezüchteten Stämme (1412a, 1439a) gleichzeitig auch Dextrin und Amylum vergären lernten, ist bei Züchtung in Maltose-

1) Die in Klammern gesetzten Vorzeichen (—) bedeuten das Resultut am 1. Beobachtungstage, die nicht eingeklammerten Vorzeichen daneben das Endresultat am 5. Tage.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

peptonwasser nur gegen diesen Zucker ein wirksames Enzym gebildet worden. Man kann deshalb annehmen, daß im Nähragar dextrin- und stärkehaltige Stoffe vorhanden sind, durch die das Gärvermögen gewisser labiler Stämme verändert wird. Andererseits ist es verständlich, daß in einem Nährboden, der nur aus Pepton, Kochsalz und Maltose besteht, allein ein Maltose vergärendes Enzym gebildet wird.

Wenig Einfluß ergeben die Milchzucker- und Saccharosestämme, von denen nur Mi 1536 und 1537 Maltose verändern, aber auch hier nicht stärker als die auf Agar gezüchteten Stämme. Mi und Sa Flexner zeigen promptere Wirkung auf Stärke, so daß man den Eindruck hat, als ob die Züchtung in eiweißarmen und zuckerreichen Nährböden schon bestehende Zuckerenzymwirkungen stärker hervortreten ließe. Verändert hat sich ferner Sa Shiga-Kruse und Sa 1439, die beide durch Züchtung in Saccharoselösung ebenfalls nach 8 Monaten Maltose vergären, während die entsprechenden Milchzuckerstämme sich nicht verändert haben. Inulin, Glykogen und Lichenin wird von allen Stämmen unverändert gelassen.

Zusammenfassend ist in bezug auf die Ruhrbacillen zu sagen: Flexner vergärt Maltose, Dextrin und Amylum, zeigt also analog der Amylomaltase Wirkung aller 3 Enzyme. Typus Shiga-Kruse und Y lassen eine Säurebildung vermissen. Von den neu gezüchteten Y-Stämmen hat ein Teil sich konstant gezeigt (Y 1412b und 1439b), die übrigen haben allein durch Züchtung auf Agar neue Enzyme gebildet, so Stamm 1536 und 1537 gegen Maltose, 1412a und 1439a gegen Maltose, Dextrin und Amylum. Die letzten sind demnach kulturell nicht mehr vom Typus Flexner zu unterscheiden. Wie Flexner verhält sich außerdem der Stamm Hofgeismar. Durch Züchtung in Maltosepeptonwasser lassen sich Y-Stämme leicht zu Maltosevergärern machen (s. Tabelle XII).

Die Prüfung der dritten Gruppe von Kohlehydraten umfaßt folgende Zucker: Dulcit, Isodulcit (Rhamnose), Saccharose, Raffinose, Milchzucker, und die beiden Glykoside Salicin und Amygdalin. Bekanntlich ist der Typus Strong der Ruhrbacillen durch die Fähigkeit, Saccharose zu vergären, charakterisiert. Von der Typhus-Coli-Gruppe vergärt diesen Zucker nur der Kontrollstamm Coli unter Gasbildung, von der Ruhrgruppe nach 24 Stunden nur Bac. Strong. Aber schon einige der Y-Stämme, wie 1412a und 1537, zeigen nach 4mal 24 Stunden geringe Säuerung. Auch hier hat die Fortzüchtung auf Schrägagar das Gärvermögen verändert, da die Stämme, frisch gezüchtet, sich gegen Saccharose negativ verhielten. Strong vergärt außerdem von den Ruhrbacillen allein Dulcit; dieser Zucker käme also auch zur Differentialdiagnose in Frage. Die übrigen Zucker lassen kein gesetzmäßiges Verhalten der Ruhrbacillen ihnen gegenüber erkennen, da ein Teil der Y-Stämme (1536, 1537, DH) Isodulcit, 1439a, DH, Y und Strong Raffinose vergären, die anderen Stämme nicht.

Von der Typhus-Coli-Gruppe zeigt Typhus 1524 und Alcaligenes gar keine Wirkung, die Gasbildner vergären Dulcit und Isoducit. Saccharose, Raffinose und Milchzucker werden nur vom Kontrollstamm Coli unter Gasbildung vergoren, während Coli 1662 nur Isodulcit, Milchzucker und merkwürdigerweise auch Salicin vergärt. Nach 3mal 24 Std. zeigt auch der Typus Strong als einziger von den Ruhrbacillen in Milchzucker Säuerung. Dieses Verhalten möchten wir auch lediglich als Alterserscheinung auffassen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XII.

Zucker	Dulcit	Isodulcit (Rhamnose)	Saccharose	Raffinose	Milchzucker	Salicin	Amygdalin
Beobachtungstage	1—5	1—5	1—5	1—5	1—5	1—5	1—5
Alcaligenes	—	—	unverändert				
Typhus 1524	—	—					
Paratyphus A	(±) + Gas[1]	(+) + Gas					
„ B	+ Gas	+ Gas					
Ent. Gärtner	+ „	+ „					
Coli	+ „	+ „	+ Gas	+ Gas	+ Gas	—	—
Shiga-Kruse Flexner	unverändert						
Y 1412 a	—	—	(—) ±	—	—	—	—
Y 1412 b Y 1439 a	unverändert						
Y 1439 b	—	—	—	(±) +	—	—	—
Y 1536	—	+	—	—	—	—	—
Y 1537	—	(±) +	(—) ±	—	—	—	—
DH	—	+	—	(—) +	—	—	—
Y	—	—	—	+	—	—	—
Strong	+	+	+	+	(—) +	—	—
Coli 1662	—	+ Gas	—	—	+ Gas	(—) + Gas	—
Maltose Kruse	—	—	—	—	unverändert		
„ Y 1412 I	—	(—) +	(—) +	—			
„ Y 1412 II	—	—	—	—			
„ Y 1439 I	—	—	(—) ±	+			
„ Y 1439 II	—	(—) +	(—) ±	—			
„ Y 1536	—	(—) +	+	—			
„ Y 1537	—	(—) +	+	—			
Milchzucker Kruse	—	—	—	—	—	—	—
„ Flexner	—	—	(—) +	—	—	—	—
„ Y 1412 I	—	(—) ±	—	—	—	(±) +	—
„ Y 1412 II	—	(—) ±	—	—	—	—	—
„ Y 1439	—	(—) ±	—	—	—	—	—
„ Y 1536	—	(—) +	(—) +	—	—	—	—
„ Y 1537	—	(—) +	(—) ±	—	—	—	—
Saccharose Kruse	—	—	—	—	—	—	—
„ Flexner	—	—	+	—	—	—	—
„ Y 1412	—	—	(—) +	—	—	—	—
„ Y 1439	—	—	+	+	—	—	—
„ Y 1536 I	—	(∓) +	(—) +	—	—	—	—
„ Y 1536 II	—	(—) +	(—) +	—	—	—	—
„ Y 1537	—	(—) +	+	—	—	(—) +	—

Was die längere Züchtung der Y-Stämme in Zuckernährlösungen anbelangt, so zeigt ein Teil der Maltose- und Milchzuckerstämme (1412, 1439) Isodulcit gegenüber Gärvermögen, das die Agarstämme vermissen ließen. Von den Ma- und Sa Y-Stämmen haben alle bis auf Ma Y 1412 II die Fähigkeit erlangt, Saccharose zu vergären. Es hat den Anschein,

1) Siehe Bemerkung unter Tabelle XI.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

als ob bei diesen Stämmen eine Parallelität beider Enzymwirkungen besteht, so daß eine Steigerung des einen ebenfalls eine Zunahme des anderen Enzyms zur Folge hat. Gar keine Wirkung lassen die Milchzuckerstämme erkennen. Es ist uns nicht gelungen, bei Y-Stämmen durch 8-monatiges Fortzüchten in Milchzuckerpeptonwasser diese zu Milchzuckervergärern zu machen. Dagegen gelingt es sowohl bei Flexner als auch bei allen Y-Stämmen, durch Züchtung in Saccharosenährböden ein gegen diesen Zucker wirkendes Enzym zu erzeugen. Die Stämme Sa Flexner, Sa 1439 und Sa 1537 vergären nach 24 Stunden prompt Saccharose. Y 1439 zeichnet sich noch dadurch aus, daß er auch Raffinose vergärt, mithin in bezug auf Saccharose und Raffinose nicht vom Typus Strong zu trennen ist.

Von den beiden Glykosiden ist auf Amygdalin keine Wirkung bei sämtlichen Stämmen festzustellen, Salicin wird von Coli 1662 unter Gasbildung zersetzt und von Mi. 1412 I und Sa 1537 gesäuert.

Alles in allem ergibt diese Prüfung ein so wechselvolles Bild, daß eine Differentialdiagnose älterer Ruhrbacillenstämme, zumal der giftarmen Typen, auf kulturellem Wege fast unmöglich erscheint. Zwischen dem reinen Y-Typ, der nur Traubenzucker und Mannit vergären soll, und dem Typus Flexner mit seinem Gärvermögen gegenüber Maltose, Dextrin und Amylum kommen alle Uebergänge vor. Ebenso läßt sich künstlich der Typus Flexner und Y zu Saccharosevergärern machen und sich somit dem Strongschen Typ nähern. Wir möchten aber betonen, daß man bei frischer Züchtung aus Krankenmaterial nach der von Lentz angegebenen Methode stets einwandfreie Resultate erhält. Nur ist bei der außerordentlichen Veränderlichkeit der giftarmen Ruhrbacillen die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß im kranken Körper selbst eine solche Aenderung eintreten kann. Das Vorkommen sowohl von Y- als auch Flexner-Bacillen bei ein und demselben Patienten könnte in diesem Sinne verwertet werden, wenn natürlich auch eine Infektion mit beiden Erregern möglich ist. Gerade bei größeren Epidemieen in Japan sind verschiedene solche Beobachtungen gemacht worden.

Unsere Versuche, durch Tierpassage die einzelnen Stämme wieder in ihre typische Form zurückzuführen, ergaben keine einwandfreien Resultate. Durch Züchtung aus dem Herzblut mit Reinkulturen geimpfter Mäuse bekamen wir Stämme, die gar kein Gärvermögen Kohlehydraten gegenüber hatten, andererseits solche, die ihr altes Verhalten beibehalten hatten, obwohl sie durch die Agglutination als identisch angesehen werden mußten, wiederum ein Beweis mehr für die Veränderlichkeit dieser Stämme.

IV. Agglutination.

Die aktive Immunisierung gegen den Shiga-Kruse-Bacillus gehört auch heute noch wegen der enormen Giftigkeit dieses Typs Kaninchen gegenüber zu einer der schwierigsten Aufgaben, und stets sind solche Versuche mit relativ hohen Tierverlusten begleitet. Unsere Immunisierungsversuche wurden ausschließlich mit abgetöteten Bakterienaufschwemmungen in der Weise angestellt, daß die erforderliche Kulturmenge nach Normalösen berechnet, in 1—2 ccm steriler Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 2 Stunden einer Temperatur von 60° C ausgesetzt wurde. Die Injektionen wurden in Zwischenräumen von 7 Tagen mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

steigenden Bakteriendosen wiederholt. Bei denjenigen Stämmen, deren toxische Wirkung gegen Kaninchen, und nur letztere Tierart benutzten wir, bekannt war, wurde zunächst mit subkutanen Injektionen begonnen und die intravenösen erst nach subkutaner Einverleibung von etwa 1 bis 2 Kulturen daran angeschlossen. In dieser Weise stellten wir die Immunsera von Ent. Gärtner, Shiga-Kruse und DH her, aber auch trotz der größten Vorsicht und sorgfältigsten Beobachtung der Tiere ging es ohne Verluste nicht ab. Außer erheblicher Gewichtsabnahme während des Impfversuchs — bis zu 1173 g bei Y 1536 — und Mattigkeit der Tiere beobachteten wir unter Umständen länger oder kürzer anhaltende Lähmungen der hinteren Extremitäten. Die Immunisierung wurde nicht allzu lange fortgesetzt, da lange fortgesetzte Injektionen nach den Erfahrungen von Lüdke, Shiga und Lentz nur zur Folge haben, daß der Agglutinationstiter wieder sinkt. Von jedem unserer 17 Stämme haben wir durch Injektionen an Kaninchen homologe Immunsera hergestellt. Ueber die Menge des Impfstoffes, das Gewicht der Tiere am Anfang und am Ende der Impfung und über den gewonnenen Agglutinationstiter gibt die Tabelle XIII Aufschluß.

Tabelle XIII.

Kaninchen-No.	Gewicht des Tieres vor Beginn der Injektionen	Datum der ersten Injektion	Impfstamm	Impfmenge bei der ersten Injektion	Impfmenge bei der letzten Injektion	Geblutet am	Körpergewicht vor der Entblutung	Gewichtsdifferenz	Agglutinationstiter des Serums
32	3340 g	2. 11. 1910	Ty 1524	$^1/_4$ Oese intravenös	2 Kulturen intravenös	21. 12. 1910	2675 g	670 g	1 : 2000
31	2790 „	14. 11. 1910	Paraty A	dgl.	1 Kultur intravenös	3. 1. 1911	1860 „	930 „	1 : 1000
20	1870 „	16. 3. 1910	Paraty B	„	dgl.	21. 4. 1910	1245 „	625 „	1 : 2000
36	3400 „	2. 11. 1910	Ent. Gärtner	$^1/_2$ Oese intravenös	$1^1/_2$ Kulturen intravenös	31. 1. 1911	2650 „	750 „	1 : 7000
34	3845 „	24. 11. 1910	Coli	$^1/_2$ Oese subkutan	2 Kulturen intravenös	12. 1. 1911	3365 „	480 „	1 : 500
80	3090 „	17. 10. 1910	Shiga-Kruse	$^1/_{50}$ Oese subkutan	dgl.	31. 1. 1911	2610 „	480 „	1 : 3000
16	1500 „	16. 3. 1910	Flexner	$^1/_4$ Oese intravenös	1 Kultur intravenös	25. 4. 1910	1190 „	310 „	1 : 7000
40	3345 „	9. 11. 1910	Y 1412 a	dgl.	dgl.	18. 12. 1910	2915 „	430 „	1 : 3000
35	3140 „	24. 11. 1910	Y 1412 b	„	„	31. 12. 1910	2900 „	240 „	1 : 10 000
33	1770 „	15. 11. 1910	Y 1439 a	„	„	20. 12. 1910	1352 „	418 „	1 : 10 000
82	2465 „	23. 11. 1910	Y 1439 b	„	$1^1/_2$ Kulturen intravenös	5. 1. 1911	2470 „	+ 5 „	1 : 3000
37	3150 „	7. 11. 1910	Y 1536	„	1 Kultur intravenös	13. 12. 1910	1977 „	1173 „	1 : 20 000
39	2560 „	8. 11. 1910	Y 1537	„	dgl.	20. 12. 1910	1998 „	562 „	1 : 3000
91	3722 „	12. 12. 1910	DH	$^1/_4$ Oese subkutan	2 Oesen intravenös	4. 2. 1911	3310 „	412 „	1 : 20 000
41	3215 „	9. 11. 1910	Strong	$^1/_4$ Oese intravenös	4 Kulturen intravenös	11. 1. 1911	2360 „	855 „	1 : 100
38	2575 „	8. 11. 1910	Y	dgl.	1 Kultur intravenös	20. 12. 1910	1725 „	850 „	1 : 7000
81	2490 „	14. 11. 1910	Coli 1662	„	2 Kulturen intravenös	10. 1. 1911	1980 „	510 „	1 : 10 000

Die so erhaltenen Immunsera wurden nun einmal mit ihrem homologen Stamm bis zur Titergrenze ausgewertet, und dann auch die übrigen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XIV.

Verdünnungen	Typhusimmunserum										Paraty-A-Immunserum									Paraty-B-Immunserum								
	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	NaCl	10	50	100	200	300	500	700	1000	NaCl	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	NaCl
Ty	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
A	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
B	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
G	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coli	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kr	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fl	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
1412 a	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
1412 b	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1439 a	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
1439 b	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1536	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
1537	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
DH	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Str	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Y	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
1662	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—

Verdünnungen	Ent. Gärtner-Immunserum													Coli-Immunserum						
	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	5000	7000	NaCl	10	50	100	200	300	500	NaCl
Ty	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
Coli	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—
Kr	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fl	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
1412 a	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
1412 b	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—
1439 a	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
1439 b	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
1536	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	±	—	—	—	—
1537	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
DH	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Str	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Y	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—
1662	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—

Verdünnungen	Kruse-Immunserum											Flexner-Immunserum												
	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	NaCl	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	5000	7000	NaCl
Ty	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kr	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fl	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
1412 a	+	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—
1412 b	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verdünnungen	Kruse-Immunserum											Flexner-Immunserum											
	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	NaCl	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	5000	7000	NaCl
1439 a	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
1439 b	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—
1536	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
1537	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
DH	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Str'	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Y	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
1662	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Verdünnungen	Y 1412 a-Immunserum											Y 1412 b-Immunserum												
	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	NaCl	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	5000	7000	10 000	NaCl
Ty	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coli	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kr	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
1412 a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—
1412 b	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
1439 a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—
1439 b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
1536	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—
1537	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
DH	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Str	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Y	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
1662	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Verdünnungen	Y 1439 a-Immunserum														Y 1439 b-Immunserum											
	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	5000	7000	10 000	NaCl	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	5000	NaCl
Ty	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coli	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kr	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—
1412 a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
1412 b	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
1439 a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
1439 a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
1536	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
1537	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—
DH	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Str	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Y	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—
1662	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verdünnungen	Y 1536 Immunserum																	Y 1537 Immunserum										
	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	5000	7000	10 000	12 000	15 000	20 000	NaCl	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	NaCl
Ty	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kr	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fl	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
1412 a	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
1412 b	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
1439 a	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
1439 b	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
1536	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
1537	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
DH	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Str	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Y	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
1662	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Verdünnungen	DH-Immunserum																	Strong-Immunserum			
	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	5000	7000	10 000	12 000	15 000	20 000	NaCl	10	50	100	NaCl
Ty	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coli	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kr	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fl	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1412 a	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1412 b	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1439 a	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
1439 b	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
1536	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
1537	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
DH	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Str	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—
Y	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
1662	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Verdünnungen	Y-Immunserum												Coli 1662-Immunserum													Kaninchen-Normalserum			
	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	5000	7000	NaCl	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	5000	7000	10 000	NaCl	10	50	100	NaCl
Ty	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kr	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fl	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verdünnungen	Y-Immunserum													Coli 1662-Immunserum														Kaninchen-Normalserum			
	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	5000	7000	NaCl	10	50	100	200	300	500	700	1000	2000	3000	5000	7000	10 000	NaCl	10	50	100	NaCl
1412 a	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
1412 b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
1439 a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
1439 b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
1536	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	±	—	—
1537	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
DH	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Str	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Y	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
1662	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	+	—	—	—

16 Stämme mit jedem agglutinierenden Serum geprüft, um dadurch festzustellen, zu welchen der Seren unsere aus der kleinen Ruhrepidemie gezüchteten 6 Stämme die größte Affinität haben würden. Die folgenden Tabellen mögen die gefundenen Werte illustrieren (s. Tabelle XIV).

Bei der Typhus-Coli-Gruppe macht sich zunächst die Mitagglutination des Bac. enteritidis Gärtner auf Typhusserum geltend und in noch viel höherem Grade umgekehrt die Mitagglutination des Typhusbacillus auf Gärtner-Serum, eine Tatsache, worauf in letzter Zeit besonders Lebram, Rimpau u. a. aufmerksam gemacht haben. Die verschiedenen Dysenteriestämme agglutinierten diese Sera in schwankendem Maße mit, überschritten dabei aber nie die Grenze von 1 : 300. Eine Ausnahme machte allein der Shiga-Kruse-Stamm, welcher durch keines der Sera beeinflußt wurde.

Das Kruse-Immunserum, welches den eigenen Stamm bis zur Verdünnung 1 : 3000 agglutinierte, beeinflußte auch sämtliche anderen Dysenteriestämme, am meisten Y 1412 b (bis 1 : 1000). Die Mitagglutination von DH (bis 1 : 700) beweist vielleicht dessen nahe Verwandtschaft mit dem Kruse-Stamm.

Von dem Flexner-Serum wurde Shiga-Kruse in kaum nennenswerter Weise verklumpt, dagegen agglutinierten die Y-Stämme mehr oder weniger hoch mit, teilweise sogar fast bis zur Titergrenze. Dasselbe Verhalten machte sich nun auch bei den verschiedenen Y-Immunseren geltend gegenüber den aus den Dysenteriestühlen gezüchteten Bakterien einerseits und dem Flexner- und Y-Stamm andererseits.

Betrachtet man das Agglutinationsvermögen einzelner Y-Stämme näher, so ergeben sich bemerkenswerte Verschiedenheiten.

Von dem Serum 1412 b werden bis zur Titergrenze noch 1439 b und Kontrollstamm Y agglutiniert. Ebenso verhält sich das Serum des Stammes Y. Es sind dies nun die Stämme, die sich kulturell auch jetzt noch wie der Typus Y verhalten. Aber schon das Serum 1439 b läßt eine Differenzierung des Flexner- und Y-Typus nicht mehr zu, denn von diesem wird Flexner fast ebenso stark agglutiniert wie der typisch gebliebene Y-Stamm 1412 b. Mit diesem Serum 1439 b wäre mithin eine Differentialdiagnose unmöglich. Bemerkenswert ist ferner, daß derselbe Stamm 1412 b, den wir nach seinem Verhalten gegen Y- und 1412 b-Serum für einen reinen Y-Typ halten müßten, auch vom Shiga-Kruse-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serum so erheblich agglutiniert wurde, daß er bei Prüfung mit diesem Serum wiederum für einen Shiga-Kruse-Stamm gelten könnte. Ohne die kulturelle Prüfung wäre dieser Stamm also als zwischen Kruse und Y stehend zu bezeichnen, zumal er auch von dem Serum des Stammes DH, der sich agglutinatorisch und toxisch wie ein Shiga-Kruse verhält, genau so stark agglutiniert wird, wie der Stamm Shiga-Kruse selbst.

Eine Sonderstellung nehmen außerdem die Stämme 1536 und 1537 ein, indem ihre eigenen Sera die anderen Y-Stämme weit unter der Titergrenze agglutinieren und somit eine Differenzierung zwischen Flexner und Y unmöglich machen.

Zusammenfassend ist also zu bemerken, daß eine strenge Scheidung durch das Agglutinationsphänomen für den Typus Flexner und Y bei den uns zur Verfügung stehenden Stämmen unmöglich war, ja der Stamm Y 1412b verhält sich agglutinatorisch sogar fast wie ein Shiga-Kruse, neben seiner Eigenschaft vom Y-Serum bis zur Titergrenze agglutiniert zu werden. Das verschiedene Verhalten der gewonnenen Stämme bei einer so kleinen Epidemie, die sicher aus einer einzigen Infektionsquelle stammt, spricht auch für eine Wandlungsfähigkeit des agglutinatorischen Verhaltens des Typus Y.

Es dürfte von ganz besonderem Interesse sein, an dieser Stelle einen nochmaligen Rückblick auf die Entwickelung der Ruhrepidemie in unserem thüringischen Städtchen Tr. zu werfen, die ihrer Entstehung und Entwickelung nach — es konnten bei den kleinen, durchsichtigen Verhältnissen die einzelnen Fälle verfolgt werden — einheitlich ist. Bis zum Spätsommer 1906 war nach den Ermittelungen von Konrich Ruhr in epidemischer Weise in jener Gegend seit einem Menschenalter nicht vorgekommen; damals setzte plötzlich eine Ruhrepidemie von 161 Erkrankungen mit 19 Todesfällen ein; als ihr Erreger wurde von demselben Autor der Bacillentyp Shiga-Kruse festgestellt. Als Infektionsquelle für diese Massenerkrankung mußte mit allergrößter Wahrscheinlichkeit ein auf Urlaub befindlicher Schutztruppler aus Südwestafrika angesehen werden, welcher Ruhr durchgemacht, aber zurzeit seines Urlaubes frei von Krankheitserscheinungen war; denn aus dem Stuhl dieses Soldaten konnte Konrich einen Bacillus züchten, welcher kulturell dem Flexner-Typ sehr nahe stand, der aber vom Flexner-Serum nur gering, dagegen vom Kruse-Serum in weit höheren Verdünnungen agglutiniert wurde, als sein homologer Kruse-Stamm selbst (Stamm DH). Seit dieser größeren Epidemie kamen in Tr. im April, Mai und Sommer 1907 weitere Einzelerkrankungen vor, desgleichen solche im Jahre 1908. Das Jahr 1909 war dann von Ruhrerkrankungen anscheinend frei, jedenfalls wurden in dieser Zeit an die für die thüringischen Lande obligatorische Untersuchungsstelle des Hygienischen Instituts in Jena keine verdächtigen Materialproben eingesandt. Es muß aber dennoch wohl sicher angenommen werden, daß sich in dem einmal mit Ruhr verseuchten Tr. der Krankheitskeim während mehrerer Jahre am Leben erhielt, um bei günstiger Gelegenheit von neuem seine Wirkung zu entfalten. Dieses erneute Aufflackern der Epidemie geschah nun in den ersten Monaten des Jahres 1910, aber jetzt wurde, und das ist bemerkenswert, von uns nicht Shiga-Kruse als Erreger gefunden, auch nicht der DH, sondern

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ruhrbacillen vom Typus Y, von denen sich aber einer (Y 1412b) in seinen agglutinatorischen Eigenschaften fast wie ein Shiga-Kruse-Bacillus verhielt. Führt da nicht der Gedanke der Zusammengehörigkeit dieser letzten Epidemie in Tr. mit der ersten im Jahre 1906, die durch den südwestafrikanischen Reiter eingeschleppt wurde, auch zu dem Schluß, daß ihre Erreger auf einen gemeinsamen Ursprung zurückzuführen seien, nur daß die Bakterien infolge ihrer langen Lebensdauer und der verschiedenen Lebensbedingungen, denen sie sich anpassen mußten, auch im Laufe der Zeit ihre kulturellen und biologischen Eigenschaften änderten? Natürlich läßt sich diese Behauptung auch bestreiten, immerhin ist ihre mögliche Richtigkeit auf Grund der Untersuchungen schwer von der Hand zu weisen. Es konnte jedenfalls für das zweitmalige Auftreten gehäufter Ruhrfälle in Tr. im Jahre 1910 eine erneute äußere Infektionsquelle nicht gefunden werden. Auch im Sommer 1910 waren nach dem Bericht eines dortigen Arztes Durchfälle häufig in der Bevölkerung von Tr.; unter den Kranken mit schweren Darmerscheinungen befand sich auch eine Frau, die schon im Jahre 1906 bei der damaligen Epidemie Ruhr überstanden hatte.

Das Strong-Serum konnte nur bis zu dem Titer 1 : 100 gebracht werden, obwohl das Tier zu seiner Herstellung 4 Schrägagarkulturen intravenös injiziert bekommen hatte.

Auf das Y-Immunserum agglutinierten sowohl Flexner als auch alle anderen Dysenteriestämme, mit Ausnahme von Kruse und Strong, die ja auch sonst in ihrem Verhalten erhebliche Unterschiede aufweisen.

Das Serum Coli 1662 vom Titer 1:10000 enthielt für den Vergleichs-Coli-Stamm nur wenig Agglutinine, noch weniger für die Dysenteriestämme. Daß gelegentlich ähnliche Bakterien aus dem Stuhl von Ruhrkranken gezüchtet werden können, beweist die Arbeit von Kuhn und Woithe: Sie fanden bei einer Ruhrepidemie in einer Privatirrenanstalt im Stuhl eines Kranken neben sicheren Ruhrbacillen Coli-Bakterien und Kokken, die durch Kaninchen-Flexner-Serum stark beeinflußt wurden. Ein mit diesen Stämmen am Kaninchen gewonnenes agglutinierendes Serum agglutinierte auch Ruhrstämme, wenn auch in geringem Maße.

Martini und Lentz erbrachten mit Hilfe eines Shiga-Kruse-Ziegen- und eines Flexner-Kaninchenserums den Nachweis der Artverschiedenheit der Typen Shiga-Kruse, Flexner und Strong, dagegen bereitete es Schwierigkeiten, mit Hilfe der serumdiagnostischen Methoden den Bacillus Y von dem Flexner-Typ zu unterscheiden. Das hat seinen Grund darin, daß gerade die Y-Stämme verschieden leicht agglutinabel sind und Flexner-Immunsera häufig beide Typen bis zur Titergrenze agglutinieren, worauf besonders Haendel, Lentz, Liefmann und Nieter aufmerksam machen, und was auch bei der Hagenauer Ruhrepidemie des Sommers 1908 beobachtet wurde.

Ein so nahes Verwandtschaftsverhältnis der Typen Strong und Y, daß diese durch die Agglutination nicht zu trennen möglich wären, was Shiga behauptet, konnten wir nicht konstatieren.

Es bilden sich also bei der künstlichen Immunisierung mit einem Ruhrbacillentyp im Serum der Versuchstiere neben den Hauptagglutininen, welche den homologen Typ beeinflussen, Nebenagglutinine, welche auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die heterologen Ruhrtypen zusammenklumpen und so den Wert des betreffenden Serums als differentialdiagnostisches Mittel mehr oder weniger herabsetzen. Diese Bildung der Nebenagglutinine ist je nach der Tierart verschieden, beim Kaninchen noch am wenigsten störend ausgesprochen.

Wir ließen alle unsere Agglutinationsversuche 2 Stunden bei 37° C im Brutschrank und lasen das Resultat ohne Vergrößerung mit bloßem Auge ab.

Auf die Frage, ob Ruhrstämme durch Agglutination überhaupt zu trennen sind, antwortet Lüdke bejahend für Shiga-Kruse- und Flexner-Bacillen, ungewiß aber für die anderen Ruhrtypen; denn durch die Anpassungsfähigkeit an veränderte Lebensbedingungen, so im tierischen Organismus, kann die eine oder andere Qualität für eine gewisse Zeit verloren gehen, der Bacillus z. B. virulent, virulenter oder auch avirulent werden, wodurch wieder die Bildung der Agglutinine beeinflußt werden könne.

Wo es nicht gelingt, durch die Agglutination den Flexner- und Y-Typ mit Sicherheit zu differenzieren, muß man die kulturellen Methoden mitheranziehen, die ja bei frisch gezüchteten Stämmen eindeutige Resultate geben.

V. Komplementbindungsversuche.

Die Frage, ob die Komplementbindung zur Differentialdiagnose verschiedener Ruhrstämme angewendet werden kann, ist noch eine strittige, jedenfalls sind die Resultate bei den einzelnen Untersuchern verschieden, meist sogar wenig befriedigend ausgefallen.

Auch zur Differenzierung unserer gezüchteten Dysenteriebakterien haben wir den Komplementversuch mitherangezogen.

Um das erforderliche Immunserum zu erhalten, wurden Kaninchen mit je einem der 17 Vergleichsstämme immunisiert und jedesmal die Blutentnahme aus einer Ohrvene — etwa 30 ccm — dann gemacht, wenn das Tier 4 Tage nach derjenigen Injektion war, bei welcher es eine Bakterienemulsion von 2 Normalösen intravenös erhalten hatte. Die Blutentnahme geschah absichtlich in so frühem Stadium der Immunisierung, weil nach den Angaben der Literatur bei den Komplementversuchen zu hohe agglutinierende Eigenschaften des Serums nur störend wirken sollen. Das Blut wurde in den Eisschrank gestellt, am nächsten Tage das klare Serum abgegossen oder nötigenfalls noch zentrifugiert und dann durch $^1/_2$-stündiges Erwärmen im Wasserbade bei 56° C inaktiviert. Die Aufbewahrung bis zum Versuch erfolgte wiederum im Eisschrank.

Den Bacillenextrakt stellten wir in folgender Weise her: 24-stündige Agarkulturen wurden mit 5 ccm destillierten Wassers abgeschwemmt; dazu kamen 5 ccm einer 7-proz. Antiforminlösung. Das Gemisch wurde in den 37°-Schrank gestellt, bis es völlig klar war. Der Ueberschuß von Alkali wurde durch tropfenweises Hinzufügen von 5-proz. H_2SO_4 (Prüfung gegen Lackmuspapier), das überschüssige Chlor durch tropfenweises Zufügen von stets frisch bereiteter Natriumsulfitlösung (Prüfung gegen Jodkaliumstärkepapier) entfernt. Die so nach den Angaben von Altmann gefertigten Extrakte erwiesen sich als durchaus brauchbar und hatten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

noch den Vorzug, daß sie für mehrere Monate haltbar waren, zumal sie einen Zusatz von 0,5 Proz. Karbol erhielten.

Als Komplement diente frisches Meerschweinchenserum in der Menge von 0,05 ccm für jedes Versuchsröhrchen.

Der hämolytische Hammelblutambozeptor war vom Kaninchen gewonnen und hatte den Titer 1 : 4000.

Das defibrinierte Hammelblut wurde in der üblichen Weise mit einer 0,85-proz. Kochsalzlösung gewaschen und dann aus den Blutkörperchen eine 5-proz. Emulsion hergestellt.

In einem Vorversuch wurde jedesmal an einer Meerschweinchenkomplementmenge von 0,05 ccm der Ambozeptor ausgewertet; löste der Ambozeptor die Hammelblutkörperchen z. B. noch in einer Verdünnung von 1 : 4000, so wurde in dem eigentlichen Versuch die 3—4-fache Menge der so ausgewerteten Ambozeptoreneinheit verwendet, also mit einer Ambozeptormenge von etwa 1 : 1000 gearbeitet.

Der eigentliche Versuch begann damit, daß von dem inaktiven Immunserum acht um das Doppelte fallende Verdünnungen hergestellt wurden, beginnend mit 0,2 bis 0,001 in jedem Kubikzentimeter; da wir jedes Serum außer an seinem eigenen Bakterienextrakt auch an den Extrakten der anderen 16 Stämme prüften, so waren demnach 17 Portionen jeder Verdünnung erforderlich. Zu jeder Serummenge wurden die Bakterienextrakte in einer Verdünnung von 1 : 20 hinzugefügt und dann die Komplementmenge von 0,05 in jedes Röhrchen gegeben, so daß also im ganzen 3 ccm darin enthalten waren. Jetzt kamen die Röhrchen für 2 Stunden in den Brutschrank bei 37° C; desgleichen die nötige Menge des inaktiven hämolytischen Systems, d. h. also des Ambozeptor-Hammelblutkörperchengemisches. Nach diesen 2 Stunden wurde davon jedem Röhrchen 2 ccm hinzugefügt und nach abermaligem 1-stündigen Verweilen bei 37° C die Röhrchen herausgenommen, in das Zimmer gestellt und das Resultat am nächsten Morgen abgelesen. Jedesmal wurden folgende Kontrollprüfungen angestellt:

Das Komplement in der doppelten Menge durfte allein keine Hämolyse geben, ebensowenig wie die Verdünnungsflüssigkeit, die Kochsalzlösung selbst. Das Kaninchenimmunserum allein ohne Extrakt in einer Menge von 0,2 und 0,4 ccm durfte keine Hemmungen der Hämolyse ergeben und ebensowenig der Bacillenextrakt in seiner einfachen und doppelten Gebrauchsdosis. Endlich haben wir den ganzen Versuch mit einem Normalserum, d. h. mit einem nicht vorbehandelten Kaninchenserum, angestellt, es mußte überall vollständige Hämolyse eintreten.

Die gewonnenen Resultate ergeben die folgenden Tabellen; es bedeutet darin:

0 = komplette Hemmung.
+ = komplette Hämolyse.
0+ = starker Bodensatz, die Hemmung überwiegt.
+0 = geringer Bodensatz, die Hämolyse beherrscht das Bild.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XV.

Ty-Immunserum, agglut. Titer 1 : 800.

Röhrchen	Ty-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0	0+	0	0	+0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,1	0	0+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0+	+0	+0	0+	0	0
3	0,05	0	+	0	0	+	0	0+	0	0	0	0	+	+	+	+	0	+0
4	0,025	0	+	0	0	+	+	+	+	+0	+0	0+	+	+	+	+	0+	+
5	0,01	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	0,005	0	+	0+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	0,0025	0	+	+	0+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	0,001	+0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Paratyphus A-Immunserum, agglut. Titer 1 : 1000.

Röhrchen	A-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0,025	0+	0	0+	0	0	+0	0	0	0	0	0	0+	0+	0	+	0	0
5	0,01	+	0	+0	+0	0	+	+0	+	+0	+	+	+	+	+	+	+	+
6	0,005	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	0,0025	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	0,001	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Paratyphus B-Immunserum, agglut. Titer 1 : 2000.

Röhrchen	B-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	0,1	+	0	0	0+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	0,05	+	0	0	0+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	0,025	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	0,01	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	0,005	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	0,0025	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	0,001	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ent. Gärtner-Immunserum, agglut. Titer 1:1000.

Röhrchen	G-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0	+	+0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	0,1	0	+	+0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	0,05	0	+	+0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	0,025	0	+	+0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	0,01	0+	+	+	0+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	0,005	+0	+	+	0+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Coli-Immunserum, agglut. Titer 1:75.

Röhrchen	Coli-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,05	+0	0+	+	+	0	+	+	+	+0	+	+	+0	+	0	0	+	+
3	0,025	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	0,01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	0,005	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Kruse-Immunserum, agglut. Titer 1:3000.

Röhrchen	Kr-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	0,1	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	0,05	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	0,025	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	0,01	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	0,005	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	+0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Flexner-Immunserum, agglut. Titer 1:4000.

Röhrchen	Fl-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	+	+	+	+0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	+
2	0,1	+	+	+	+0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	+
3	0,05	+	+	+	+	+	+0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	+
4	0,025	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0+	0	0	0+	+	0	+
5	0,01	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0+	0+	+	+	+	+
6	0,005	+	+	+	+	+	+	0+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Y 1412a-Immunserum, agglut. Titer 1:4000.

Röhrchen	1412 a-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0,025	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+
5	0,01	+0	+0	0+	+0	+0	+0	0	0	0	0	0	0	0	0+	+	0	+
6	0,005	+0	+0	+	+0	+0	+0	0	0	0	0	0+	0	0	0+	+	+0	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	0+	0	+	0	+	+0	+0	+	+	+	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+0	+	+	+	+	+	+	+

Y 1412b-Immunserum, agglut. Titer 1:10000.

Röhrchen	1412 b-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0,025	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0,01	+	+	+0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0+	+	+	0	0
6	0,005	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	+	+	+	+	0	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+0	0	+	+	+	+	0	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	0+	+	+	+	+	+	+	0+	+

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Y 1439a-Immunserum, agglut. Titer 1:4000.

Röhrchen	1439 a-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	+0	0	0	0+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	+	0	0
2	0,1	+0	0	0	0+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	+	0	0
3	0,05	+	+	+0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+0	+	0	0
4	0,025	+	+	+	+	+	0	0	0	0+	0	0+	0	0	+	+	0+	+
5	0,01	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+0	+	+	+	+
6	0,005	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+0	+	+	+	+	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Y 1439b-Immunserum, agglut. Titer 1:5000.

Röhrchen	1439 b-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	0	0+
2	0,1	0	0	0	+0	+0	0	0	0	0	0	0	0	0	+0	+0	0	0+
3	0,05	+	0+	0	+0	+	0+	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	+
4	0,025	+	+	+0	+	+	+0	0	0	0	0	0	0	0+	+	+	0	+
5	0,01	+	+	+	+	+	+	0	+0	0	+0	0	+	+0	+	+	0	+
6	0,005	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+0	0	+	+	+	+	0	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+0	+	0	+	+	+	+	+	+

Y 1536-Immunserum, agglut. Titer 1:7000.

Röhrchen	1536-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0,025	0	0	0+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	0	0+
5	0,01	+	+0	+0	+	0+	0+	0	0	0	0	0	0	0	+0	+0	0	+0
6	0,005	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0+	0	0	+	+	0+	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	0	+0	+	0	0+	0	0	+	+	+0	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+0	+	0	0	+	+	+	+

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Y 1537-Immunserum, agglut. Titer 1:10 000.

Röhrchen	1537-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0,025	0	0	0+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+
5	0,01	0+	0+	+	0+	0+	+0	0+	0+	0+	0	0+	0	0	0	0+	0+	+0
6	0,005	+	+	+	+	+	+	+0	+	+0	0	+	0	0	+0	+0	+0	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0+	+	0+	0	+	+	+	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+0	0+	+	+	+	+

DH-Immunserum, agglut. Titer 1:20 000.

Röhrchen	DH-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0+	0+	+0	0	0+	0	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0	0+	0+	0+
2	0,1	+0	+0	+0	0+	0+	0	+0	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0	+0	0+	0+
3	0,05	+0	+0	+0	+0	+0	0	+0	+0	+0	+0	+0	+0	+0	0	+0	+0	+0
4	0,025	+0	+0	+0	+0	+0	0	+0	+0	+0	+0	+0	+0	+0	0	+	+0	+0
5	0,01	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+
6	0,005	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	0+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+
8	0,001	+	+	+	+	+	0+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+

Strong-Immunserum, agglut. Titer 1:1.

Röhrchen	Str-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0	0	0	0	0	0+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,1	0	0	0	0+	0	0+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0+	+	+
4	0,025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0+	+	+
5	0,01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0+	+	+
6	0,005	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0+	+	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+0	+	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+0	+	+

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Y-Immunserum, agglut. Titer 1 : 7000.

Röhrchen	Y-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0,025	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0,01	0	0	+0	0+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	0+	0	0+
6	0,005	0+	0+	+	+0	+0	+0	0	0	0	0	0	0	0	+	+0	0	+0
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	+0	+	0	+0	0	0+	+0	+	+	0	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	0+	+0	0	+0	+	+	+	0	+

Coli 1662-Immunserum, agglut. Titer 1 : 1000.

Röhrchen	1662-Serum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,05	+	0	+	+	0	0	0	0	0+	0	0+	0	0+	0	0	0	0
4	0,025	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0+	+0	0	+0	+0	0
5	0,01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
6	0,005	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+0

Normalserum.

Röhrchen	Normalserum	Extrakt																
		Ty	A	B	G	Coli	Kr	Fl	1412 a	1412 b	1439 a	1439 b	1536	1537	DH	Str	Y	1662
1	0,2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	0,1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	0,05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	0,025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	0,01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	0,005	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	0,0025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	0,001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Um die Resultate bei den Komplementbindungsversuchen einigermaßen richtig beurteilen zu können, muß man sich von vornherein darüber klar sein, wie weit man überhaupt eine Hemmung als spezifisch bezeichnen darf; es gibt nämlich gerade unter den Kaninchen eine ganze Reihe von Tieren, die schon an und für sich komplementbindende Stoffe in ihrem Serum beherbergen, also eine positive Wassermannsche Reaktion geben. Man muß deshalb großen Wert auf die Hämolyse in den Serumkontrollen legen; sind diese zum Teil oder ganz gehemmt, so ist damit die Eigenhemmung im Serum des betreffenden Tieres erwiesen, wenigstens für eine Serummenge von 0,4 und 0,2 ccm, wie sie in den Kontrollen verwandt wurde. Bei solchen Seren fanden wir denn auch ausnahmslos, daß die ersten 2 oder gar 4 Röhrchen mit allen Extrakten eine Hemmung der Hämolyse ergaben, mithin konnten wir diese Hemmung als keine spezifische bezeichnen, sondern mußten sie der Eigenhemmung des Serums zugute rechnen. Bei der Beurteilung haben wir demnach diese ersten Röhrchen mit Eigenhemmung ausgeschaltet, was natürlich die Sicherheit des Resultates in nicht unerheblicher Weise zu beeinträchtigen imstande ist.

Daß unser Normalserum vorschriftsmäßig überall komplette Hämolyse auch mit den einzelnen Bakterienextrakten ergab, lag allein darin, daß dieses Tier zufällig keine oder wenig komplementbindende Stoffe in seinem Blutserum beherbergte.

Alle Immunsera wurden, wie schon erwähnt, gewonnen, nachdem das Tier 2 Normalösen Bakterienmaterial intravenös injiziert erhalten hatte; wir haben gleichzeitig dabei immer bei demselben Serum den Agglutinationstiter festgestellt und konnten dabei besonders bei den Dysenteriestämmen bereits einen recht beträchtlichen erzielen, der auch durch die späteren gesteigerten Bakterieninjektionen nicht mehr wesentlich in die Höhe getrieben werden konnte.

Das Typhusimmunserum gab mit seinem homologen Bakterienextrakt bis zu einer Verdünnung von 0,001 noch ausgesprochene Hemmung, mit dem Gärtner-Extrakt aber auch noch bis ins 7. Röhrchen bei einer Serummenge von 0,0025. Auch der Paratyphus-B-Extrakt hemmte, wenn auch nicht bis ganz zu derselben Grenze herunter.

Das Paratyphus-A-Serum zeigte eine ausgesprochene Hemmung mit seinem eigenen Extrakt, die von keinem der anderen Stämme erreicht wurde; dasselbe gilt für das Paratyphus-B-Serum, auffallend dabei ist die hohe Mithemmung des Coli-Extraktes.

Das Gärtner-Serum zeigt ein ähnliches Verhalten dem Typhusbakterienextrakt gegenüber wie das Typhusserum dem Gärtner-Extrakt.

Die Hemmung beim Coli-Immunserum ging mit seinem eigenen Extrakt nur um 1 Röhrchen weiter, wie z. B. mit DH- und Strong-Extrakt.

Einwandfrei und sehr deutlich trat die spezifische Hemmung des Kruse-Serums mit Shiga-Kruse-Bacillenextrakt hervor. Hierbei muß aber bemerkt werden, daß wir bei dem nach intravenöser Injektion von 2 Oesen entnommenen Blut keine Spur einer Hemmung erhielten; es wurde deshalb dasselbe Tier weitergespritzt und der Versuch wiederholt, als das Tier 2 Schrägagarkulturen der Shiga-Kruse-Bakterien intravenös injiziert erhalten hatte, und dabei erst das jetzige Resultat gewonnen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das DH-Serum ergab außer mit seinem eigenen Extrakt nur noch mit dem Shiga-Kruse-Extrakt bis zum 8. Röhrchen hin deutliche, wenn auch nicht komplette Hemmung.

Das Strong-Serum hemmte nur mit seinem eigenen Extrakt, ähnlich wie das Serum Coli 1662, ein Verhalten, das für die geringe Verwandtschaft dieser Stämme zu den übrigen Dysenteriestämmen zu sprechen scheint.

Als erster hat Dopter versucht, durch Komplementablenkung die Ruhrbacillen zu differenzieren; er erhielt aber meist Ablenkungen für alle auch nicht homologen Stämme und faßte deshalb die Ruhrbacillen trotz etwaiger sonstiger Differenzen in ihrem biologischen Verhalten als artgleich auf. Dem widerspricht Haendel mit seinen Versuchen, bei denen sich zeigte, daß den Flexner- und Y-Stämmen eine an und für sich viel stärkere komplementablenkende Wirkung zukomme, wie den Shiga-Stämmen. Aus dem Uebergreifen der Komplementablenkung kann nach seiner Meinung nicht auf die Artgleichheit der verschiedenen Ruhrerreger geschlossen werden, vielmehr muß man sagen, daß die Komplementablenkung nicht so spezifisch verläuft, wie andere Immunitätsreaktionen, und daß sie sich daher auch bei der Ruhr nicht zu einer sicheren Differenzierung der verschiedenen Ruhrerreger als brauchbar erweist.

Daß das Komplementbindungsvermögen nach den Angaben von Amako und Kojima viel früher im Verlaufe der Immunisierung auftritt als die Agglutination, konnten wir nur teilweise bestätigen, da unsere Kaninchen schon nach so geringen Bakteriengaben von 2 Oesen meist eine beträchtliche Agglutination aufwiesen, jedoch scheinen Agglutinine und komplementbindende Stoffe absolut nicht identisch zu sein, da z. B. auch Sera mit geringem oder gar keinem Agglutinationstiter (Typhus, Paratyphus A, Gärtner, Coli, Strong) doch erhebliche Hemmungen aufweisen, eine Tatsache, auf die besonders Raskin hinweist.

Auch nach den Angaben von Kolle, Heller und de Mestral eignet sich die Komplementbindungsmethode wegen der sehr wechselnden Beeinflussung sowohl der homologen als auch der heterologen Stämme nicht zur Differenzialdiagnose der Flexner- und Y-Bacillen.

Nach unseren Untersuchungen stellte es sich bei dem Flexner- und den verschiedenen Y-Seren heraus, daß es durch die Komplementbindung nicht möglich war, die einzelnen Stämme zu differenzieren, da sie in ziemlich wahlloser Weise auch mit anderen Dysenteriebacillenextrakten fast bis zu ihrer eigenen Hemmungsgrenze mit Hemmung reagierten.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1) Bact. typhi und Bac. Ent. Gärtner lassen sich durch die Agglutination allein schwer voneinander trennen; es besteht zwischen beiden eine nahe, aggutinatorische Verwandtschaft.

2) Frische Ruhrstämme vom Typus Y zeigen oft eine nicht unbeträchtliche Mitagglutination auf Typhusserum.

3) Als Erreger der Ruhrepidemie des Frühjahrs 1910 in dem thüringischen Städtchen Tr. wurden von uns Bakterien isoliert, die sich kulturell wie der Typus Y verhielten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4) Sämtliche Erkrankungen bei dieser Nachepidemie hatten einen leichten bis mittelschweren Verlauf; Todesfälle traten nicht auf.

5) Die Differenzierung der gewonnenen Stämme war nur durch ihr Verhalten gegen Mannit, Maltose und Saccharose bei frischer Züchtung aus dem Krankenmaterial ermöglicht.

6) Durch längere Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden nimmt ein Teil der Y-Stämme die Eigenschaft an, Maltose zu vergären, also sich kulturell wie Flexner zu verhalten, ein Teil bleibt konstant.

7) Durch Züchtung in zuckerhaltigen Nährmedien läßt sich das fermentative Verhalten der Dysenteriestämme gegen verschiedene Zucker ändern. So konnte sowohl Shiga-Kruse als auch die Y-Stämme in Saccharose und Maltosevergärer überführt werden, während eine Gewöhnung an Mannit für Shiga-Kruse und an Milchzucker für die übrigen Ruhrstämme selbst durch 8-monatiges Fortzüchten in Laktosepeptonwasser nicht erzielt werden konnte.

8) Bezüglich der Agglutination durch Immunsera zeigten Flexner-, Y- und die gewonnenen Stämme ein so verschiedenes Verhalten, daß eine einwandfreie Trennung der Stämme untereinander nicht erzielt werden konnte. Stamm 1412b zeigte sogar hohe Mitagglutination auf Shiga-Kruse-Serum.

9) Ebenso fielen die Resultate der Komplementbindung aus, so daß bei der leichten Veränderlichkeit des Verhaltens gegen Kohlehydrate bei Y-Stämmen mit der Möglichkeit einer Umwandlung in den Flexner-Typ im menschlichen Körper gerechnet werden muß.

10) Die Ruhrepidemie des Jahres 1906 in Tr. wurde durch den Bacillus Shiga-Kruse, die Nachepidemie des Jahres 1910 durch den Y-Typ verursacht. Der Bacillenträger, welcher in seinem Stuhl einen dem Shiga-Kruse nahe verwandten Bacillus (DH) beherbergte, ist als der Ausgangspunkt der ersten Epidemie vom Jahre 1906 mit großer Wahrscheinlichkeit anzusehen. Es liegt infolgedessen die Möglichkeit der Umwandlung eines und desselben Mikroorganismus auf Grund breiter wechselnder physiologischer Funktionen vor.

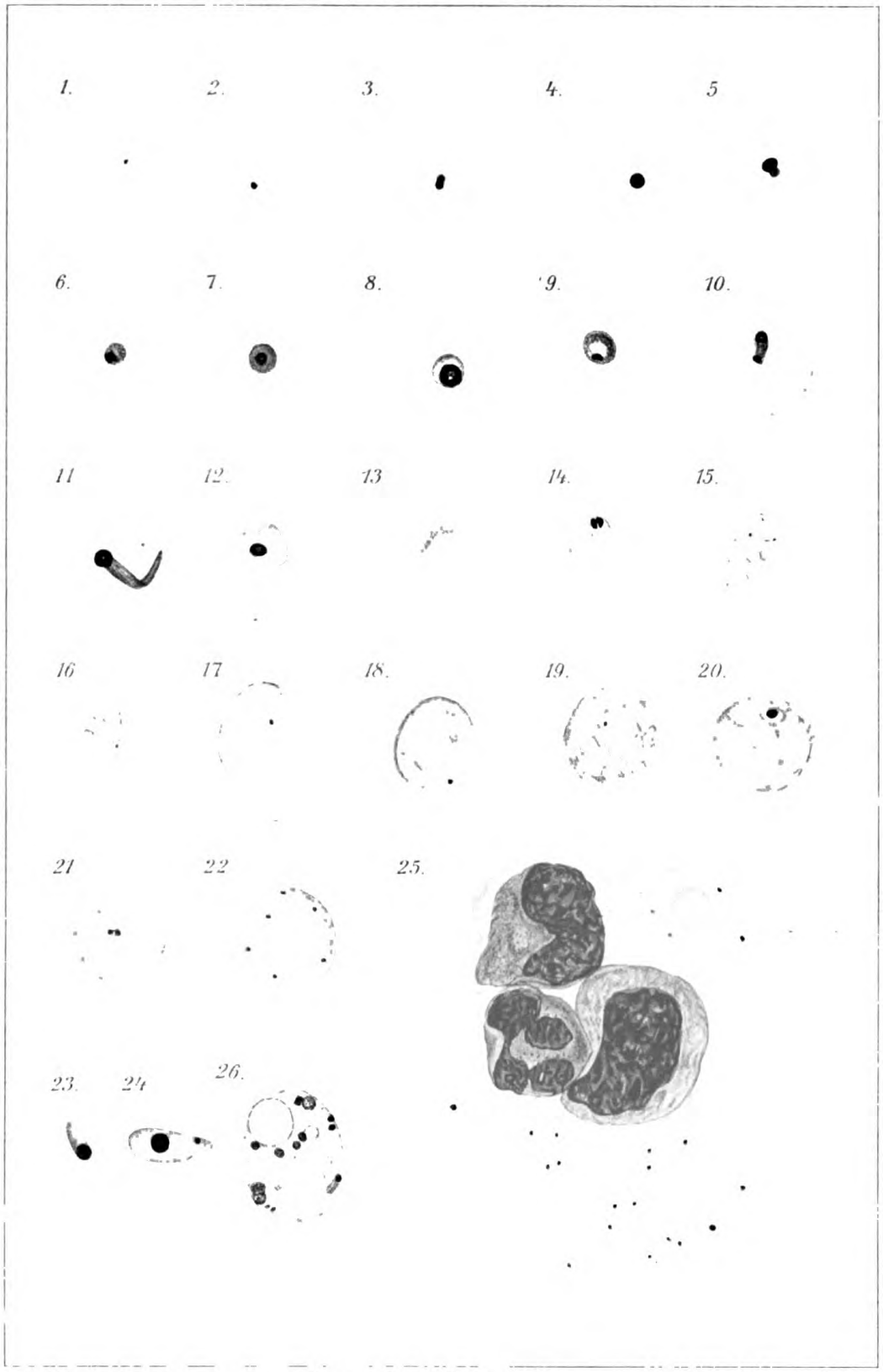
Literaturverzeichnis.

1) Altmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. H. 2.
2) Amako, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 60. 1908. H. 1.
3) — —, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 5. H. 5.
4) — — u. Kojima, ebenda. Bd. 3. H. 5.
5) Baermann u. Schüffner, München. med. Wochenschr. 1909. No. 8.
6) Bail u. Rubritius, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. p. 641.
7) de Besche u. Kon, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 62. p. 161.
8) de Blasi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1904. H. 2.
9) Brückner, Dtsche med. Wochenschr. 1910. No. 44.
10) Ciechanowski u. Nowak, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 23. No. 11.
11) Crossonini, Arch. f. Hyg. Bd. 32. H. 2.
12) Cybulski, Dtsche med. Wochenschr. 1909. No. 21.
13) Deycke, ebenda. 1901. No. 1.
14) Doerr, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. H. 5.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

15) Doerr, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. H. 4/5.
16) Dombrowski, Arch. f. Hyg. Bd. 47. 1903. H. 3.
17) Erdmann u. Winternitz, München. med. Wochenschr. 1903. p. 982.
18) Fischer, Hohn u. Stade, Klin. Jahrb. Bd. 23. H. 1.
19) Haendel, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 28. 1908. H. 2.
20) Hetsch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1903. H. 6.
21) Jacobsen, ebenda. Bd. 56. H. 3/4.
22) Jürgens, Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 46.
23) Karlinski, Wien. klin. Wochenschr. Bd. 19. 1906. p. 1550.
24) Kazarinow, Arch. f. Hyg. Bd. 50. 1904. H. 1.
25) Konrich, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 60. 1908. H. 2.
26) — —, Klin. Jahrb. Bd. 23. H. 1.
27) Kowalenko, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 66. p. 277.
28) Kraus u. Doerr, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 55. H. 1.
29) Kreucker, München. med. Wochenschr. 1909. p. 1066.
30) — —, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. H. 14.
31) Kruse, Dtsche med. Wochenschr. 1900. No. 40.
32) — —, ebenda. 1901. No. 23 u. 24.
33) — —, ebenda. 1907. No. 8 u. 9.
34) — —, Zeitschr. f. ärztl. Fortbild. 1904. H. 12.
35) — —, Rittershaus, Kemp u. Metz, Zeitsch. f. Hyg. Bd. 57. H. 3.
36) Kuehnemann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. H. 5.
37) Kuhn u. Woithe, Med. Klin. 1909. No. 45.
38) Lebram, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 64. H. 3.
39) Leiner Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. H. 8.
40) Lentz, Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. 2. Erg.-Bd. H. 3.
41) — —, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 44. 1902. H. 3.
42) — —, ebenda. Bd. 43. 1903.
43) — —, Klin. Jahrb. Bd. 17. H. 3.
44) Luchs u. Schoene, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 60. p. 149.
45) Loesener, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. H. 3.
46) — —, ebenda. Bd. 55. H. 3.
47) — —, ebenda. Ref. Bd. 42. Beiheft. p. 59.
48) Lüdke, ebenda. Bd. 38. 1905. H. 3; Bd. 39. H. 5 u. 6.
49) — —, ebenda. Bd. 40. 1906. H. 1, 3 u. 4.
50) Lunz, ebenda. Bd. 56. p. 28.
51) Martini, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 65. p. 121.
52) — — u. Lentz, ebenda. Bd. 41. H. 3.
53) Mayer, O., Klin. Jahrb. Bd. 23. H. 1.
54) Müller, Ed., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. p. 174.
55) — —, R., ebenda. Ref. Bd. 42. Beiheft. p. 57.
56) Pachnio, Klin. Jahrb. Bd. 24. H. 4.
57) Plehn, Dtsche med. Wochenschr. 1901. No. 39.
58) Raskin, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. H. 4.
59) Rautenberg, ebenda. Bd. 36. H. 3.
60) Rosenthal, Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 6.
61) Ruge, ebenda. 1901. No. 14.
62) Selter, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 5. H. 4.
63) Shiga, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23. 1898. H. 14.
64) — —, ebenda. Bd. 24. 1898. H. 22—24.
65) — —, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 41. H. 3.
66) — —, ebenda. Bd. 60. H. 1.
67) — —, Dtsche med. Wochenschr. 1901. No. 43—45.
68) Simon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. H. 3/4.
69) Stern, R., Ebenda. Bd. 23. H. 16.
70) Thomas, Klin. Jahrb. Bd. 22. H. 1.
71) Tsuda, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 48. H. 3.
72) Twort, ebenda. Ref. Bd. 40. H. 15/16.
73) Veröffentlichungen a. d. Gebiet d. Militär-Sanitätswesens. H. 43.
74) Yoshita, S., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 66. H. 1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Lebedeff gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Ein neuer Parasit im Blute des Iltis, Microsoma mustelae.

[Aus dem Bakteriologischen Institute der Universität zu Moskau.]

Von Dr. phil. **W. Lebedeff** und Dr. med. **A. Tscharnotzky.**

Mit 1 Tafel und 1 Textfigur.

Die vorliegende Veröffentlichung berührt unsere Beobachtungen, welche wir bei der Untersuchung von vier jungen Iltissen im September 1910 machen konnten. Das Material ist noch nicht vollständig ausgearbeitet; trotzdem konnte man schon prinzipiell sehr wichtige Tatsachen konstatieren, die diese kurze Mitteilung möglich machen.

Die vier jungen Iltisse stammen aus der Umgebung von Moskau und wurden ungefähr nach 2—3 Wochen Gefangenschaft zum ersten Male untersucht.

Schon bei der ersten Untersuchung des frischen Blutes war es sehr leicht, in demselben eine unglaublich große Anzahl kleinster, kokkenähnlicher Gebilde festzustellen. Bei zweien von den Tieren war die Infektion sogar so stark, daß wir ohne weiteres in der nächsten Zeit den Tod der Tiere erwarteten. Trotzdem lebten dieselben noch verhältnismäßig lange; erst Ende Oktober ist das letzte Tier gestorben.

Die Größe der massenhaft im Blutplasma befindlichen Körperchen schwankte zwischen 0,25—0,5 μ. Sie hatten das Aussehen von Kokken und waren dabei lebhaft beweglich.

Bei der Konstatierung der erwähnten Gebilde kamen wir zuerst zu der Vermutung, daß es sich um echte Bakterien handele. Unsere Untersuchung spaltete sich deswegen in zwei Teile; einerseits um festzustellen, ob die fraglichen Gebilde Bakterien seien, und in diesem Falle sie näher zu bestimmen, und falls die Resultate negativ verlaufen sollten, die Parasiten vom protozoologischen Gesichtspunkte aus zu prüfen.

Schon das zu lange Leben der Tiere mit einer so ungewöhnlich starken Blutseptikämie war sehr verdächtig und sprach etwas gegen die bakterielle Herkunft der Gebilde. Ungeachtet des massenhaften Vorkommens von Parasiten im Blute waren unsere Iltisse die ganze Zeit sehr munter, und erst in den letzten Tagen zeigten sie sich niedergedrückt und verweigerten auch die Nahrung.

Einer von uns beschäftigte sich speziell mit der Entscheidung der bakteriellen Natur der Gebilde, jedoch war das gesamte Resultat vollständig negativ. Auf keinem der Nährböden zeigten die Gebilde irgendwelches Wachstum.

Die Untersuchung von dem zweiten Gesichtspunkte aus war viel interessanter. Bei der Herstellung der Ausstrichpräparate und der Färbung derselben nach Giemsa fallen sofort einige rundliche Körper ins Auge, die, ihrem Aussehen und ihrer Größe nach, vollständig den Erythrocyten glichen, sich aber ganz blau tingierten. Außerdem konnte man bei sorgfältiger Untersuchung zwischen typischen, normalen Erythro-

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

cyten auch solche Blutkörperchen finden, in welchen bald ganz winzige, bald etwas größere Parasiten eingebettet waren. Die genaue Durchmusterung vieler Präparate ergab die Möglichkeit, den Zusammenhang zwischen verschiedenen Stadien der Parasiten festzustellen. Die Entwickelung fängt von dem Stadium an, welches wir in Fig. 1 der Tafel sehen. Die Figur zeigt uns einen normalen Erythrocyten und im Innern desselben einen kleinen Flecken von ca. $^1/_2$ μ im Durchmesser, schwarz-rot gefärbt. Die folgenden Figuren illustrieren ein allmähliches Wachstum. Das Gebilde wird größer (Fig. 2), und bald merkt man in ihm eine beginnende Scheidung der Substanzen. Man unterscheidet einen dunkleren Punkt, den Kern, und einen etwas helleren Saum, das Protoplasma (Fig. 3, 4). Die weiteren Bilder zeigen einen allmählichen Zuwachs des Kernes und des Plasmas, sowie eine vorgeschrittene Differenzierung (Fig. 5 u. folg.). Auf solche Weise kommen wir zur Entstehung eines Malaria-ähnlichen Wesens. In der ersten Zeit geht das Wachstum des Kernes und des Plasmas mehr oder weniger parallel vor sich (Fig. 6, 7 u. 8), später aber fängt das Protoplasma zu dominieren an, und der Kern verkleinert sich sogar (Fig. 9, 10 u. 11). Zu dieser Zeit sieht man auch eine Veränderung des Farbentons der beiden Komponenten; der Kern wird jetzt rubinrot, das Plasma aber blau. Die Differenzierung hat also jetzt stattgefunden. Bei dem Wachstum des Parasiten findet man natürlich sehr variable Verhältnisse zwischen Kern und Plasma in bezug auf Größe und Aussehen desselben. Gelegentlich sieht man das Plasma feine, zugespitzte Pseudopodien bilden (Fig. 14, 15, 16). Ein Beweis dafür, daß in diesem Stadium unserem Parasiten eine amöboide Bewegung im Innern des Erythrocyten zukommt. Zur Zeit, wo das Plasma schon ziemlich gewachsen und blau geworden ist, hat sich der Kern in einen ganz kleinen Punkt umgewandelt, welcher sich sehr schwer tingieren läßt. Man findet ihn nur an den mit kochender Giemsa-Lösung gefärbten Präparaten (Fig. 16).

Nach diesem Stadium nimmt das Plasma sehr schnell zu, rundet sich ab und füllt schließlich den ganzen Erythrocyten vollständig aus, wie Fig. 17, 18 u. 19 zeigen. Das Wachstum des Parasiten vom Stadium der Fig. 15 bis zur Fig. 19 muß sich sehr schnell vollziehen, weil diese Stadien verhältnismäßig selten zur Beobachtung kommen; sie sind aber besonders wichtig. Mit Hilfe derselben läßt sich ein genetischer Zusammenhang zwischen den früheren Stadien des Parasiten und seiner weiteren Entwickelungsstufe feststellen. Auf solche Weise kommen wir von Fig. 1—14, wo der Parasit noch ganz klein ist, zu den Stadien Fig. 19, wo er das Blutkörperchen vollständig ausfüllt. Dieses letztere Stadium stellt gerade das Gebilde dar, von welchem schon früher die Rede war, und welches in großer Anzahl in den meisten Präparaten zu beobachten war. Es erinnert seiner äußeren Form nach vollständig an die Erythrocyten; in Wirklichkeit aber gehören diese Gebilde den Parasiten an. Zu dieser Periode sieht man schon keine Spur des ausgerotteten Erythrocyten mehr, und wenn vielleicht noch die sehr dünne, den Leib des Parasiten umkleidende Hülle vorhanden ist, so ist sie optisch schon nicht mehr nachzuweisen. Aus dem Vorhandensein in den Präparaten solcher Gebilde nicht nur von runder, sondern auch von ovaler oder langgestreckter Gestalt läßt sich die Folge ziehen, daß die Parasiten auch in diesem Stadium eine aktive Bewegung auszuüben imstande sind.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie ein Blick auf Fig. 17 zeigt, sieht man gelegentlich schon ziemlich früh eine Zunahme in der Größe des infizierten Erythrocyten. Demzufolge trifft man nicht selten erwachsene Parasiten, welche nach ihrer Größe die normalen Erythrocyten bedeutend übertreffen.

Was die innere Struktur anbelangt, so kann bemerkt werden, daß sehr oft das Plasma stark vakuolisiert erscheint. Der Kern ist auf den gutgefärbten Präparaten als ein ganz winziger Punkt nachweisbar (Fig. 19); selten findet man ihn bedeutend vergrößert (Fig. 20), und es kommen sogar Fälle vor, wo im Parasiten nebeneinander zwei Kerne, durch einen feinen Strang verbunden, liegen. Dieses auf Fig. 21 abgebildete Stadium stellt sicher einen Kernteilungsvorgang dar. Auf solche Weise entstehen die Parasiten mit zwei getrennten Kernen, welche sich wieder teilen und den Ursprung der größeren Anzahl von Kernen geben können (Fig. 22).

Die zu große Anzahl der Kerne (höchstens 10—12) und den wahrscheinlich später nachfolgenden Zerfall des Leibes des Parasiten, sowie das Schicksal der Abkömmlinge zu beobachten, ist uns bis jetzt noch nicht gelungen.

Die Untersuchung des frischen Blutes ergibt sehr wenig, weil die Parasiten in lebendem Zustande sich kaum vom Leibe des Erythrocyten unterscheiden. Dagegen findet man bei solcher Untersuchung im Blutplasma eine unglaublich große Anzahl kleinster, früher schon erwähnter Gebilde; in den gefärbten Präparaten treten merkwürdigerweise die freiliegenden Körperchen seltener auf, lassen sich aber mit den die Infektion der Erythrocyten bedingenden Elementen identifizieren. Viel geeigneter zur Untersuchung der freiliegenden Körperchen sind die Ausstrichpräparate vom Knochenmark. Zwischen den verschiedenen Elementen des Knochenmarks findet man gelegentlich eine Anzahl von fragwürdigen Elementen. Fig. 25 stellt ein solches Bild dar. Alle Gebilde zeigen eine rundliche Gestalt und verschiedene Größe.

Eine Gegenüberstellung der Bilder aus dem Knochenmark und den früheren Stadien der Erythrocyteninfektion beweist am klarsten, daß unser malariaähnlicher Parasit in seiner Entwickelung ein kokkenähnliches Stadium durchläuft.

Die mikroskopische Untersuchung der inneren Organe der gestorbenen, wie auch des sezierten Iltis ergab bis jetzt nichts Positives. Freilich sind in den Blutgefäßen der Lungen, Nieren, Leber und Milz dieselben freien Parasiten, sowie auch infizierte Erythrocyten angetroffen worden, aber man erzielte dabei nichts Neues.

Zu diesen mehr oder weniger sicherstehenden Tatsachen kann man noch einige Beobachtungen hinzufügen. Selten kamen nämlich bei der Untersuchung des frischen Blutes unregelmäßige, aktiv bewegliche Gebilde vor, welche den Fragmenten der Erythrocyten glichen. Sehr wahrscheinlich waren dies freigewordene, erwachsene Parasiten. Außerdem konnte man 2—3mal ganz typische Flagellaten sehen. Dementsprechend ist es uns gelungen, auch in einem fixierten Präparate sehr eigenartige Gebilde zu betrachten. Sie variierten ziemlich bedeutend der Größe nach, zeigten eine feste Form und im blauen Protoplasma zwei rote Kerne, die möglicherweise als Hauptkern und Blepharoplast zu deuten sind. Die Geißeln selbst sind nicht zu sehen. Zwei solcher Gebilde sind in Fig. 23, 24 dargestellt. Die letzteren Tatsachen erscheinen uns,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

trotz ihres großen Interesses, fragmentär und lassen sich bis jetzt nicht in einen sicheren Zusammenhang mit dem Parasiten bringen.

So viel ist uns gelungen, bei unserer Beobachtung zu erzielen. Die gewonnenen Resultate sind natürlich sehr spärlich, und erlauben noch keine, wenn auch nur annähernde Vorstellung von dem Entwickelungszyklus des Parasiten zu machen. Wir lassen es sogar dahingestellt, ob die Infektion der Erythrocyten und die Umwandlung des kokkenähnlichen Parasiten in die malariamakrogametocytenähnlichen Gebilde (Fig. 19) zu dem vegetativen Leben gehört, oder ob sie bereits einen geschlechtlichen Zyklus des Parasiten darstellt.

Trotzdem kann man schon in unseren spärlichen Befunden etwas ganz Eigentümliches und theoretisch nicht Uninteressantes feststellen.

Der wichtigste Punkt besteht darin, daß unser Parasit eine Zeitlang den Charakter eines Coccus hat. Nach den in der Bakteriologie herrschenden Ansichten sollen sämtliche Bakterien pflanzlichen Ursprungs sein. Die winzige Größe der betreffenden Parasiten gestattet es nicht, die feinen inneren Vorgänge klarzumachen, und hat zur Folge, daß die ganze Klassifikation sich ausschließlich auf die morphologischen Merkmale stützt. Die Wissenschaft hat schon oftmals gezeigt, daß solche Klassifikationen keinesfalls ausreichen. Solange als der Lebenszyklus der einzelnen Bakterien noch nicht ganz festgestellt ist, können wir jeden Moment erwarten, daß ein morphologisch echter „Coccus“ seiner Lebensgeschichte nach einer ganz fremden Gruppe zugerechnet werden kann. Die Spirochäten, deren tierische Natur man nach den Befunden Ehrlichs kaum bezweifeln kann, geben den besten Beweis, daß die Erscheinung der Konvergenz auch in den niedrigsten Organismen nicht minder als zwischen den höheren Pflanzen und Tieren verbreitet ist.

Wir halten uns an die Ansicht, daß es auch zwischen den Kokken solche gibt, welche sehr angepaßte und veränderte, doch aber echte tierische Wesen darstellen. Von diesem Gesichtspunkte aus sind unsere Befunde bei dem Parasiten des Iltis von großem Interesse, weil sie einen Uebergang von einem Coccus zu der echten Haemamoeba feststellen.

Soviel wir wissen, ist ein solcher Uebergang noch niemals so deutlich beschrieben worden. Freilich kann man bereits einige Fälle anführen, welche dies ebenso bestätigen, so z. B. in der von Prowazek festgestellten Gruppe der Chlamydozoen finden wir auch Parasiten, welche bei ihrer morphologischen Aehnlichkeit mit den Kokken im biologischen Sinne sehr große Unterschiede aufweisen. In ihrer Vaccinearbeit geben der Verfasser und sein Mitarbeiter, Dr. Beaurepaire Aragão, eine Tafel, welche mit unserem Bild (Fig. 25) parallel gestellt werden kann.

Die zweite interessante Eigentümlichkeit beobachten wir im Prozeß der Herausdifferenzierung des Kernes und des Plasmas, welcher bei diesem Tiere besonders klar ist und stufenweise verfolgt werden kann

Trotzdem die Lebensgeschichte des Parasiten noch ungenügend bekannt ist, können wir schon auf Grund der gewonnenen Tatsachen uns eine Vorstellung von der Stellung unseres Parasiten in dem System der Einzelligen bilden.

Es ist sicher, daß den meisten Merkmalen nach unser Parasit tierischer Herkunft ist. Von allen Protozoen steht er den Erregern der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

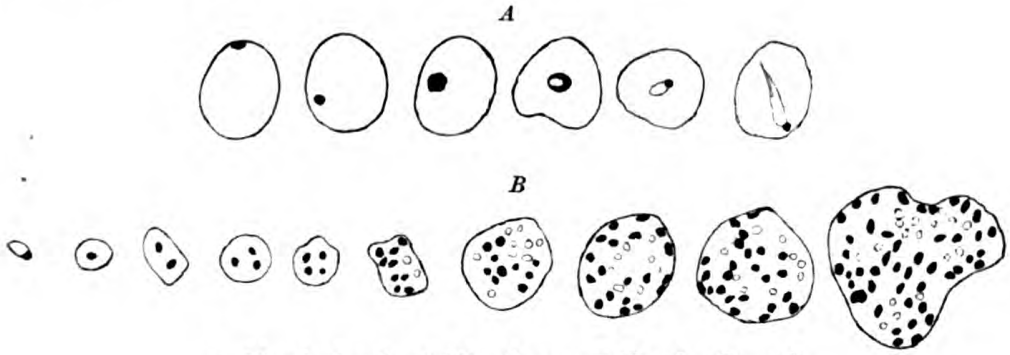
malarischen Krankheiten und vor allem den sogenannten Piroplasmen am nächsten. Von den letzteren unterscheidet er sich beträchtlich durch seine Größe. Zu der Zeit, wo er den gesamten Erythrocyten vollständig ausfüllt, ist er einem Malariamakrogametocyten am meisten ähnlich. Auffallend sind auch die ersten Stadien der Entwickelung, welche so an die Kokken erinnern.

Bei der Besprechung der nächsten Verwandten unseres Parasiten, der Piroplasmen, seien aus der enormen Literatur in unserer kurzen Mitteilung nur die Arbeiten von Bruce u. a. über „Amakebe" erwähnt. [„Amakebe: A disease of calves in Uganda", by D. Bruce, A. Hamerton, H. Bateman and F. Mackie. (Proceed. of the Roy. Soc. Vol. 82. N. B. 555.)]

Bei dieser Krankheit haben die Verfasser in den Erythrocyten des erkrankten Kalbes 2 Arten von Piroplasmen gefunden, welche sie als Piroplasma bigeminum und Piroplasma mutans bestimmt zu haben glaubten. Außer diesen Parasiten aber beschreiben sie ebenfalls in roten Blutkörperchen einige rätselhafte Gebilde, die zuerst Theiler gesehen und als „Marginal points" bezeichnet hatte, diejenigen Stellen kleiner Gebilde, welche nach der betreffenden Färbung als rote Punkte am Rande des Erythrocyten liegen. Bruce u. a. führen die Abbildungen an, wo diese Elemente schon vergrößert und in kleine, protoplasmaähnliche Gebilde übergehend dargestellt sind.

Außer diesen erwähnen die Verfasser der „Amakebe" noch die sogenannten „Koch's granules or blue bodies". Letztere waren zuerst von Koch hauptsächlich in der Milz und anderen inneren Organen der an Amakebe leidenden Tiere gefunden worden. Sie stellen eigentümliche, freiliegende, blaugefärbte Gebilde dar, in deren Innerem je nach der Größe ein bis mehrere rubinrote Flecke zu sehen sind.

Der Anschaulichkeit wegen mögen hier die von den vier Autoren angegebenen Bilder vereinfacht dargestellt werden. Eine Zusammenstellung dieser genau kopierten, nur in schwarzem Tone gehaltenen Zeichnungen mit unserer Tafel erlaubt es dem Leser am besten, einen Vergleich zu ziehen.



A „Marginal points" Theilers. *B* Kochs Granula.
Nach D. Bruce u. a.

Die Kochschen Granula wurden in der letzten Zeit auch bei anderen Piroplasmosen konstatiert (Stannus), und stellten sehr rätselhafte Gebilde dar. Sie sind für uns besonders interessant, weil sie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auch auf unseren Parasiten etwas Licht zu werfen imstande sind. Wie die nebenstehende Textfigur zeigt, meinen Bruce und seine Mitarbeiter, daß die Entwickelung der „blue bodies“ vom einkernigen zum vielkernigen System läuft; in Wirklichkeit jedoch kann man die Stadien auch in entgegengesetzter Richtung anordnen. In diesem Falle können wir die größeren Kochschen Granula mit unseren Figuren 19, 20, 21, 22 vollkommen in eine Reihe stellen, wenn wir nur voraussetzen, daß unsere Parasiten durch die Vermehrung der Kerne vielkernig werden, vielleicht wachsen und schließlich zu zerfallen anfangen, bis sie einer Menge kleiner einkerniger Körperchen den Ursprung geben.

Daß ein solcher Vorgang stattfindet, erscheint uns sehr plausibel. Freilich sieht man bei dem Vergleiche der erwähnten Gebilde einen beträchtlichen Unterschied sowohl in der Größe des Leibes, als auch im Aussehen und vor allem in der Anzahl, Größe und dem Charakter der Kerne. Es ist jedoch hierbei nicht zu vergessen, daß unser Fall ein 2—3-monatliches Iltisjunges betrifft und eine akute Erkrankung darstellt, und daß unsere „blauen Körper“ in peripherischem Blute gefunden wurden. Dem entgegen gehören die Kochschen Granula der Verfasser den chronischen Fällen an, und sind in der Milz und anderen inneren Organen gefunden worden. Unter diesen Umständen könnte leicht ein beträchtlicher Unterschied vorhanden sein. Aber bei unserer Untersuchung ist uns einmal ein Stadium zu beobachten gelungen, welches für uns den obenerwähnten Zusammenhang zwischen den Gebilden außer Frage stellt.

Es handelt sich um einen Befund aus dem Knochenmark. Wir fanden dort einen „blauen Körper“, welcher allen Merkmalen nach als Zwischenglied im obenerwähnten Sinne zu betrachten ist. Das entsprechende Stadium ist in Fig. 26 abgebildet.

Wir lassen vorläufig eine ausführliche Besprechung des Gebildes beiseite und betonen nur wieder, daß es in allen Beziehungen, sowohl hinsichtlich der Größe des Leibes, als auch der Form, Größe und des Aussehens der sich teilenden Kerne wirklich als eine Mittelstufe zwischen unseren erwachsenen Parasiten und den typischen Kochschen Granula aufzufassen ist.

Das weitere Schicksal der Gebilde können wir nur vermuten, und bei dieser Vermutung ist es nicht ausgeschlossen, daß als Endresultat eines stattfindenden Zerfalles die schon erwähnten Gebilde von Fig. 23 u. 24 entstehen konnten. Man muß hier wieder eine Uebereinstimmung in der äußeren Form des der Fig. 23 entsprechenden Tieres und solcher Zeichnungen von verschiedenen Verfassern, wie Bruce, Stannus u. a. betonen.

Bei dem Vergleich unseres Parasiten mit den Piroplasmen sehen wir einerseits, daß durch das Studium desselben es möglich ist, einige rätselhafte Gebilde, wie „marginal points“, Theilers und Kochsche Granula ein wenig zu beleuchten; andererseits lassen sich einige beträchtliche Unterschiede in der Entwickelung des Iltisparasiten und der Piroplasmen feststellen. Zu diesen gehören wieder die „marginal points“, ein kokkenähnliches Stadium, und das Stadium, wo der Parasit energisch zu wachsen anfängt und schließlich den Erythrocyten vollständig ausfüllt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Deswegen liegen zwei Möglichkeiten vor; entweder anzunehmen, daß der Iltisparasit eine ganz neue Gruppe einzelliger Parasiten vertritt, welche sich gerade in bezug auf die obenerwähnten Merkmale von Piroplasmen unterscheidet, oder aber anzuerkennen, daß die von uns bei Iltisparasiten stufenweise verfolgten Stadien auch in anderen Piroplasmen vorkommen, aber bis jetzt zu fragmentär studiert worden sind; in diesem Falle ist unser Parasit ein echtes Piroplasma, welches sich besonders gut zur Untersuchung eignet. Wir bleiben bei dem zweiten Gesichtspunkte. Die Lebensgeschichte des Iltisparasiten ist, wie gesagt, noch nicht vollständig aufgeklärt, und wir sind noch sehr weit davon entfernt, eine richtige Vorstellung des gesamten Lebenszyklus zu schaffen. Aber schon jetzt kann man behaupten, daß es bei dem Tiere, wie auch wahrscheinlich bei anderen Piroplasmen, einen Generationswechsel gibt. Es kann sein, daß in einer gewissen Periode die Tiere als Plasmaschmarotzer existieren und das Blutsystem des Wirtes überschwemmen; die zweite Generation führt zur Bildung der blauen Körper und endet vielleicht mit der Bildung der geißeltragenden Tiere, die wahrscheinlich die geschlechtlichen Stadien darstellten. Das sind die großen Fragen, welche eine besondere Bedeutung haben, weil unsere Kenntnisse über Piroplasmen bis jetzt beinahe gleich Null sind.

Aus dem Grunde, weil wir bei unserem Parasiten ein besonderes Gewicht auf das kokkenähnliche Stadium legen, wollen wir ihm den Namen **„Microsoma mustelae“** geben.

Januar 1911.

Zur Zeit, als vorliegender Artikel sich schon im Druck befand, erschienen noch zwei interessante Arbeiten, welche sich mit den „blauen Körperchen“ des Küstenfiebers beschäftigen. Eine ist von R. Gonder: Die Entwickelung der Theileria para, den Erreger des Küstenfiebers der Rinder Afrikas (Arch. f. Parasitenk. Bd. 21. 1911. H. 2), und die andere von F. K. Meyer: Beiträge zur Genese und Bedeutung der Kochschen Plasmakugeln in der Pathogenese des afrikanischen Küstenfiebers (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. H. 5.)

Die beiden Verf. haben die Frage nach der Herkunft der Gebilde vollständig aufgeklärt. Sie haben dabei die von uns in diesem Artikel aufgestellte Vermutung vollkommen bestätigt, nämlich daß die Kochschen Granula schließlich zerfallen und kleinsten Gebilden den Ursprung geben. Auf Grund der erworbenen Tatsache schlägt Gonder vor, die Erreger des Küstenfiebers ganz von den Piroplasmen zu trennen. In Wirklichkeit aber gibt es dafür keine genügenden Gründe.

Wir können die Piroplasmenarten, bei denen die Kochschen Granula vorkommen, als echte, zu besonderen Bedingungen angepaßte Piroplasmen betrachten. Näheres darüber siehe in dem Artikel von Dr. Lebedeff in Biologische Zeitschrift. Bd. 2. 1911. H. 2. Moskau (russisch mit deutschem Resumé).

Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Parasitologische Untersuchungen aus Grönland[1]).

Von **Gustav Meldorf**, Schularzt, Kopenhagen.

I. Entzündungskrankheiten in den Weichteilen, im Periost und in den Knochen.

Bei allen (5) untersuchten Fällen von Furunkeln fanden sich Staphylokokken; in den 4 Fällen, wo die Züchtung vom Eiter vorgenommen wurde, traten die Kokken unter dem Charakter des Staphylococcus pyogenes aureus auf.

In allen 10 untersuchten Fällen von Karbunkeln (größeren und kleineren) fanden sich Streptokokken im entleerten Eiter. In 6 dieser Fälle wurden Kulturen angelegt. Die Streptokokken schienen in der Regel identisch zu sein mit Streptococcus pyogenes. In einem Falle traten außer den Streptokokken zugleich Staphylokokken in den Kulturen auf, aber in so geringer Menge im Verhältnis zu den Streptokokken, daß man sie wohl als von Verunreinigung herrührend auffassen muß und sie nicht als die Ursache einer Mischinfektion vor der Perforation des Karbunkels betrachten kann.

Der Befund der Streptokokken im Eiter und in Kulturen von den Kohlenbeulen in Grönland bietet Interesse, da fast alle anderen Untersucher, soweit mir bekannt, Staphylokokken allein im Eiter etc. von Karbunkeln in anderen Ländern gefunden haben.

Im Eiter und in den Kulturen von 2 Abscessen fanden sich bezw. Staphylococcus pyogenes aureus und Staph. pyogenes albus? In einer Adenophlegmone reg. cruralis und einem subkutanen Panaritium wurden Staphylokokken nachgewiesen; Kulturen vom Eiter wurden nicht angelegt. In einer Phlegmone (Panaritium) an der linken Hand fanden sich bei der Untersuchung des Eiters und beim Versuch der Züchtung Diplokokken, die in langen Ketten auftreten konnten und Gelatine verflüssigten. Eine ähnliche Diplokokken-Streptokokkenform fand ich bei der Untersuchung des Eiters von einer diffusen Phlegmone an der rechten unteren Extremität; Kulturen wurden nicht angelegt. Bei einer anderen diffusen Phlegmone an der linken unteren Extremität wurde (bei Kulturen und anderen) Streptococcus pyogenes gefunden sowie Gelatine verflüssigende Staphylokokken (Staph. pyog. albus?). Bei einem Abscessus chron. thoracis fand ich Staphylokokken, die Gelatine nicht verflüssigten und sich für eine Schneeammer (Emberiza nivalis L.) avirulent zeigten (bei subkutaner Injektion). Tuberkelbacillen konnten nicht konstatiert werden.

---

1) In „Meddelelser om Grönland" (Mitteilungen über Grönland) Bd. 47. Kopenhagen 1910 habe ich von einem Teil klinischer und parasitologischer Untersuchungen aus Grönland ausführlich Rechenschaft abgelegt; ich hatte Gelegenheit, dieselben während meiner 6-jährigen Wirksamkeit als Kreisarzt im Kreise Julianehaab im südlichen Grönland (1897—1903) anzustellen.

Hier werde ich einen kurzen Auszug der einzelnen Abschnitte der erwähnten Arbeit geben, der die wichtigsten Resultate der angestellten parasitologischen Untersuchungen enthält.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Impfung von 2 Fällen von Hygrom in der Bursa olecrani sinist. (bezw. in Bouillon und Gelatine) ergaben negatives Resultat.

In 2 Fällen von Periostitis acuta costae mit Sequesterbildung sah ich bei mikroskopischer Untersuchung des Eiters Staphylokokken.

Es geht hieraus hervor, daß ich Staphylokokken gefunden habe bei Furunkeln, Abscessen, einer Adenophlegmone, einem subkutanen Panaritium und bei 2 akuten Periostiten mit Nekrosis der Costae. In allen Karbunkeln, einem phlegmonösen Prozeß an der Hand und 2 diffusen Phlegmonen habe ich dagegen Streptokokken oder Diplokokken gefunden.

II. Hautkrankheiten.

In 3 Fällen von Eczema seborrhoicum capitis (Unna) bei kleinen grönländischen Kindern zeigte die mikroskopische Untersuchung der Schorfe etc. Streptokokken, Diplokokken und Monokokken, die nach Grams Methode gefärbt wurden. Bei einem der kleinen Patienten sah ich in einem Teile der Streptokokkenketten eine deutliche Ordnung der Individuen in Diplokokken.

Impetigo: Mikroskopische Untersuchung des Inhaltes der ganzen und unbeschädigten Bläschen und Pusteln in 3 Fällen von Impetigo bei grönländischen Kindern zeigte hauptsächlich Diplokokken außer Monokokken und kurzen Ketten (an 3—4—5 Individuen), die nach Grams Methode gefärbt wurden. Im einen der 3 Fälle wurden Züchtungsversuche von den Blasen vorgenommen, wobei kleine, gelbliche, rundliche Kolonieen zum Vorschein kamen, die Gelatine nicht verflüssigen. In Stichkulturen in Gelatine wuchsen die Bakterien von den Mündungen der Stichkanäle auf die freie Gelatineoberfläche hinaus, wobei die Kokken sich vom Streptococcus pyogenes trennten.

Bei einem Falle von Ecthyma bei einem 9-jährigen Mädchen zeigte die mikroskopische Untersuchung des Inhaltes einer Pustel einzelne zerstreute Kokken und kurze Ketten.

Favus: Bei einem Fall von ausgebreitetem Schorf (Favus), der fast völlige Kahlköpfigkeit bei einer jungen Grönländerin herbeigeführt hatte, fand sich bei der Untersuchung des schwefelgelben Schorfes des Haarbodens Achorion Schönleinii.

Bei Herpes tonsurans (Tinea trichophytina) wurde bei grönländischen Kühen „Trichophyton tonsurans“ nachgewiesen.

Scabies bei den Grönländern scheint sowohl vom Sarcoptes scabiei als auch vom Psoroptes longirostris herzurühren. Diese beiden Parasiten habe ich bei der grönländischen Bevölkerung gefunden; nach den klinischen Symptomen und anderen aber muß ich doch vermuten, daß Sarcoptes scabiei die häufigste Ursache der Krätze bei der eingeborenen, grönländischen Bevölkerung ist.

III. Augenkrankheiten.

Unter 22 untersuchten Fällen von Augenkrankheiten scheinen 12 zum Kapitel: Conjunctivitis ohne nachweisbare bakterielle Ursache gerechnet werden zu müssen. In den 10 Fällen, wo man vermuten konnte, daß die gefundenen Bakterien Conjunctivitis hervorgerufen oder

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

jedenfalls dazu beigetragen haben, ein vorhandenes Leiden zu verschlimmern, fand ich in 5 Fällen Pneumokokken oder Abarten von Pneumokokken im Sekret. In 5 Fällen wurden Bacillen nachgewiesen, am häufigsten Coccobacillen, die nicht nach Grams Methode gefärbt wurden.

In den meisten der untersuchten 22 Fälle von Conjunctivitis kamen entweder allein oder zusammen mit anderen Bakterien Diplokokken vor, die in ihrem Aussehen unter dem Mikroskop Gonokokken glichen, und die sich nach Grams Methode (mehr oder weniger deutlich) färbten.

In 2 Fällen vermuteter Pneumokokkenconjunctivitis wurden Kulturen vom Sekret angelegt; in 3 wurde nur mikroskopische Untersuchung vorgenommen.

In 2 der 3 Fällen bacillärer Conjunctivitis, wo Kulturen angelegt wurden, zeigte das Stäbchen so große Uebereinstimmung mit der opaken Form des Bact. coli commune (und teils Uebergangsformen zur transparenten), daß ich glaube, daß man es als hiermit identisch ansehen darf. Beim 3. Patienten erwies sich das Stäbchen als Gelatinekulturen besonders stark verflüssigend, dem Proteus vulgaris entsprechend. Aber die Bakterie zeigte sich für eine Schneeammer (Emberiza nivalis L.) avirulent (subkutane Injektion von 0,3 ccm Bouillonkultur).

Unter den 12 Fällen von Conjunctivitis, die meiner Meinung nach am besten zur Gruppe Conjunctivitis ohne nachweisbare bakterielle Ursache zu rechnen sind, besonders wegen der geringen Anzahl der gefundenen Bakterien im Sekret, wurden Kulturen in 7 Fällen angelegt; in 5 wurde nur mikroskopische Untersuchung des Sekrets vorgenommen.

In einem Falle bekam ich kein Wachstum nach Impfung vom Sekret in Bouillon; in 3 Fällen wuchsen die Diplokokken auf Gelatine mit weißen Kolonieen, die in 2 Fällen Gelatine verflüssigten, im 3. Falle nicht; in 2 Fällen wuchsen die Diplokokken mit schön zitronengelben Kolonieen, die Gelatine nicht verflüssigten. Im 7. Falle, wo Züchtungsversuche angestellt wurden, kamen auf Gelatine kleine, weiße Kolonieen mit ovalen Kokken oder Kokkobacillen zum Vorschein, die sich nach Grams Methode nicht färbten und die Gelatine nicht verflüssigten.

Virulenzversuche wurden bei 3 der gefundenen Bakterien angestellt. Der gelbe, nicht schmelzende Diplococcus zeigte sich (bei subkutaner Injektion) avirulent für einen Hahn, der weiße, nicht verflüssigende wurde bei einer Schneeammer subkutan injiziert; man fand dieselbe kaum 3 Stunden nach der Injektion tot; bei einem jungen Raben rief derselbe einen Absceß hervor. Die weißen Kolonieen mit ovalen Kokken oder Kokkobacillen zeigten sich avirulent bei subkutaner Injektion bei einem Raben.

IV. Stomatitis aphthosa pp.

In 7 Fällen von Stomatitis aphthosa, alle bei kleinen grönländischen Kindern (0—2 Jahr alt), wurde mikroskopische Untersuchung vorgenommen; in 2 Fällen wurden gleichzeitig Züchtungsversuche von den grauweißen Flecken angestellt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die mikroskopische Untersuchung der infiltrierten, teilweise nekrotischen Partieen des Gewebes zeigte in allen diesen 7 Fällen eine außerordentlich große Menge kettenbildender Kokken, die besonders Neigung hatten, als Diplokokken und Ketten von Diplokokken aufzutreten. Die Kokken färbten sich nach Grams Methode. Sie konnten ganz rund, oval (mit ihren Längsachsen in gegenseitiger Verlängerung oder gonokokkenähnlich), oder endlich von einigermaßen kubischer Form sein. Außer den Kokken sah man in verschiedenen der Präparate von den Aphthenflecken einen Teil Bacillen und Spirillen, die sich nach Grams Methode färbten; sie waren immer nur in verhältnismäßig geringer Anzahl in den Präparaten vorhanden und machten den Eindruck, als ob sie mehr zufällige Gäste wären. Die Kokken dominierten immer die mikroskopischen Bilder.

In den beiden Fällen, wo Züchtungsversuche von den Aphthenflecken angestellt wurden, zeigten die Kokken, daß sie in den gewöhnlichen Nährsubstraten wuchsen und Gelatine verflüssigten unter Bildung größerer, schalenförmiger Vertiefungen an der Gelatineoberfläche; die Verflüssigung aber verlief langsam und unvollständig (ebenso wie bei den Strepto-Diplokokken, die von dem vorhin genannten Panaritium an der linken Hand gezüchtet wurden).

In der weißen, weichen, glänzenden Schicht, die den Zahnhals von 2 ausgezogenen Zähnen bekleidete, fanden sich bei mikroskopischer Untersuchung Bakterien, die den von anderen Ländern beschriebenen gewöhnlichen Mundbakterien entsprachen: Leptothrix innominata, Bacillus buccalis maximus, Spirillum sputigenum und andere.

V. Catarrhus intestinalis acutus.

In 6 Fällen von Catarrhus intest. acut., wo Züchtungsversuche angestellt wurden, zeigten die gefundenen Bakterien sich als Bact. coli commune; in 2 Fällen fanden sich zugleich Proteus vulgaris Hauser, aber nur in geringerer Anzahl; er kann möglichenfalls von Verunreinigung außerhalb des Organismus herrühren. In 8 Fällen akuten Darmkatarrhs, wo nur mikroskopische Untersuchung stattfand (ohne gleichzeitige Impfungs- oder Züchtungsversuche), sah ich Bakterien, die durchaus Bact. coli (Kokkobacillen — längere Stäbchen mit abgerundeten Enden usw.) glichen und die sich in der Regel auch nicht nach Grams Methode färbten.

Züchtungsversuche von normalen, festen, geformten Faeces bei einem 56 Jahr alten, verheirateten Grönländer zeigten Reinkultur des Bact. coli commune (die transparente Varietät). Er färbte sich (im Darminhalt, nicht in den Kulturen) nach Grams Methode, unterschied sich aber nicht in irgendwelcher Hinsicht von den während des Darmkatarrhs vorgefundenen Repräsentanten dieses Bacillus.

Züchtungsversuche vom Darminhalt bei einem frisch geschossenen Schneehuhn (Lagopus mutus) zeigten coli-artige Kokkobacillen, die sich nach Grams Methode nicht färbten, sondern Gelatine verflüssigten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

VI. Krankheiten der Urin- und Geschlechtsorgane.

A. Hämaturie, Bakteriurie pp.

Bei 7 Patienten mit Hämaturie wurden mikroskopische Untersuchungen des Urins vorgenommen; in 6 dieser 7 Fälle wurden gleichzeitig Züchtungsversuche von steril entnommenem Urin vorgenommen. Bakterien waren bei 5 dieser Patienten im Urin vorhanden; nur in 2 Fällen war der Urin steril. In den 5 Fällen, wo sich Bakteriurie fand, zeigten die Bakterien sich immer als Bact. coli commune.

Das grönländische Bact. coli commune (Bacillus coli) scheint sich nicht wesentlich von dem von anderen Ländern beschriebenen Darm- und Urinbacillus zu unterscheiden. In Gelatine-Platten- und -Rollenkulturen trat es unter den gewöhnlichen beiden Formen, der transparenten und der opaken Varietät, auf, vereinigt durch eine Reihe von Uebergangsformen. Die Bakterie zeigte sich sehr polymorph, sie bewegte sich lebhaft, verflüssigte nicht Gelatine und färbte sich (in Kulturen) nicht nach Grams Methode. In Urinkulturen zersetzte sie nie den Harnstoff.

Die Coli-Bacillen von Darm- und Harnwegen zeigten, daß sie (beim Versuch an 4 Schneeammern und einem Raben) im Besitze recht bedeutender pathogener Eigenschaften waren.

B. Febris puerperalis: Endometritis pp.

Bei 2 grönländischen Frauen mit puerperaler Endometritis pp. enthielt das von der Uterinkavität ausfließende Sekret Diplokokken und Ketten von Diplokokken, die teils aus kugelrunden Kokken und teils aus halbkugelförmigen, die die flachen Seiten gegeneinander kehrten, ebenso wie Gonokokken, bestanden; die letztere Form war die häufigste. Der Ausfluß enthielt zugleich eine Stäbchenbakterie, die häufig als Streptobacillus auftrat, mehr oder weniger lange Ketten bildend. Diese Bakterie rührte annehmlich von Verunreinigung von der Vagina her und war möglichenfalls Proteus vulgaris.

Bei der einen dieser beiden Kranken wurden Kulturen vom ausfließenden Eiter angelegt.

C. Urethritis gonorrhoica

kommt ab und zu bei der grönländischen Bevölkerung vor, von den an Land gekommenen Schiffen übertragen. Im purulenten Ausfluß der Urethra habe ich Gonokokken gefunden, die sich nicht nach Grams Methode färbten.

VII. Tuberkulose und andere Krankheiten der Luftröhrenschleimhäute pp.

Im Expektorat bei Phthisikern fanden sich Tuberkelbacillen. In den Präparaten kamen sie nicht selten in Mengen vor. Sie traten als dünne, schlanke Stäbchen und kurze Fasern auf, nicht selten mit geschwollenen Enden. Sie waren oft etwas gekrümmt, oder in der Mitte gebrochen; verzweigte Formen sah ich nicht in den Präparaten. Sie wurden nach Ziehl-Neelsens Methode gefärbt, oft aber etwas unregelmäßig (nicht überall gleichartig).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Außer Tuberkelbacillen sah ich fast konstant Diplokokken im Expektorat brustkranker Patienten. Die Diplokokken kamen oft in großer Menge vor. Sie glichen durchaus Pneumokokken und waren sicher auch identisch mit diesen. Gonokokkenähnliche Diplokokken sah ich auch im Expektorat.

Solche Diplokokken scheinen nicht nur im Expektorat von Phthisikern, sondern auch bei anderen katarrhalischen Affektionen der Schleimhäute der Luftröhren vorzukommen; ja auch wohl bei ganz gesunden Menschen.

Viehtuberkulose scheint auch in Grönland vorzukommen.

VIII. Eingeweidewürmer.

Von Eingeweidewürmern habe ich das Vorhandensein des Bothriocephalus latus bei der eingeborenen Bevölkerung in Grönland konstatiert, indem ich mit Hilfe eines Wurmmittels diesen Wurm aus einer jungen Grönländerin bei der Kolonie Julianehaab im Jahre 1901 vertrieb.

Außer diesem Eingeweidewurm habe ich selbst nur Oxyuris vermicularis bei der Bevölkerung Grönlands gesehen; aber bei der Durchsicht des Materials des zoologischen Museums der Universität Kopenhagen bezüglich an Würmern von Menschen in Grönland und bei der Durchsicht der Literatur zeigt es sich, daß man folgende andere Eingeweidewürmer bei der eingeborenen grönländischen Bevölkerung antreffen kann: Ascaris mystax, Ascaris maritima?, Bothriocephalus cordatus. Das Vorkommen von Ascaris lumbricoides und Taeniae muß man noch als zweifelhaft betrachten.

Wenn man die Tuberkelbacillen ausnimmt, die außer mir auch von Dr. Fritz Jörgensen gefunden sind, sind alle obengenannten Bakterien (Staphylococcus pyogenes aureus und albus, Streptococcus pyogenes, Pneumokokken oder Varietäten von Pneumokokken, Bact. coli commune, Proteus vulgaris Hauser, Mundbakterien und andere) früher nicht aus Grönland beschrieben.

Ebenfalls sind weder Achorion Schönleinii noch „Trichophyton tonsurans“ früher in Grönland gefunden worden. Von tierischen Parasiten habe ich zum erstenmal das Vorhandensein von Sarcoptes scabiei, Psoroptes longirostris und Bothriocephalus latus in Grönland konstatiert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

A turbidometer for estimating the number of bacteria in autogenous vaccines.

By **Charles F. Dawson** and **H. P. Basset,**
Delaware College, Newark, Del.
In cooperation with the U. S. Bureau of Animal Industry.

With 1 figure.

In the preparation of autogenous vaccines it is necessary to know the approximate number of bacteria in the emulsion. It is practically impossible to count the number of bacteria, especially if they be staphylococci, hence that method which is fairly accurate, easily and rapidly applied is the one to be preferred.

Sir A. E. Wright, who has done so much to demonstrate the usefulness of these vaccines, counts the bacteria by mixing the emulsion in an equal quantity of normal blood and comparing the number of corpuscles in given areas of ruled glass slides — the number of corpuscles being accepted as 5000000 per cc.

Other workers, notably Dr. Mc I. Phillips, of the Ohio State University, employed Mc Farland's nephalometer for standardizing his vaccines. This instrument consists of a series of test tubes of uniform size, containing varying amounts of precipitate of barium sulphate. These are obtained by mixing varying amounts of a 1 per cent. solution of chemically formed barium chloride and of a 1 per cent. solution of chemically formed sulphuric acid. There are five tubes, No. 1 containing 0.1 cc. sulphuric acid and 9.9 cc. of barium chloride. In tubes Nos. 2, 3, 4, and 5, the amount of acid increased in arithmetical progression, while the amount of barium chloride is decreased in the same progression, so that tube No. 5 contains 9.5 cc. of barium chloride and 0.5 cc. of sulphuric acid. The resulting precipitate of barium sulphate, when shaken up, produces a turbidity which is equal to a suspension of bacteria containing 50000000 to the cc. This comparison is made with the naked eye, and it is very difficult to judge. In addition to the above injection, the precipitate falls quite rapidly, and the comparison must be rapidly made.

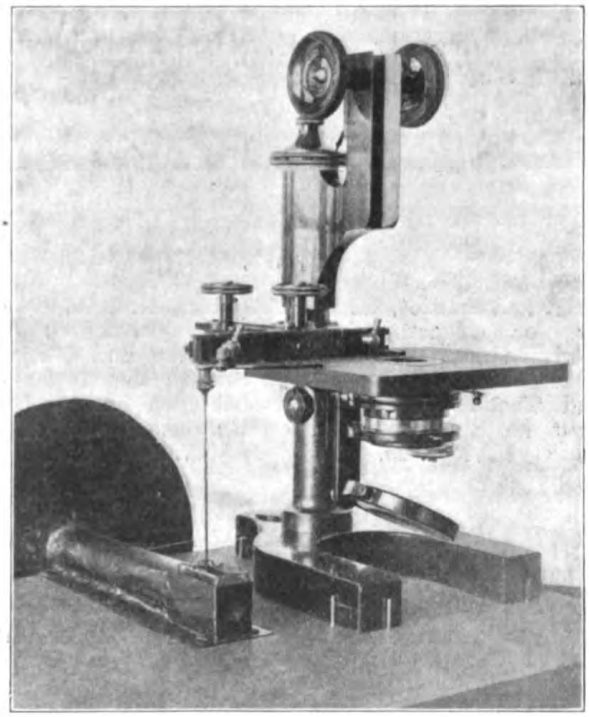
One of us (Bassett) had formerly judged turbidities by noting the vanishing point of bodies when immersed in turbid liquids contained in graduated cylinders, taking the readings by looking down into the tube.

The apparatus here described employs this method as its essential feature. It consists of an ordinary microscope stand supplied with a mechanical stage having the usual scale and vernier. To the curved finger which holds the microscopic glass slides in place is attached a stiff, straight wire, or, as is shown in the photograph, a long hypodermic or aspirating needle has soldered to its butt a short piece of tin which is slotted in the end so as to allow it to be clamped to the above-mentioned finger by passing under the shoulder of the small thumb screw which serves as a handle in moving the finger when a slide is to be inserted, in microscopic work. This needle or rod dips down into a glass box which contains the turbid liquid. The glass box fits snugly

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

into a rectangular metal box having a hole in its end to admit light. A tube extends from the other end of this box to the edge of the base board, where it has soldered to it a semi-circular eye-shield. The observer looks through a hole at this end and can readily note the vanishing point of the rod and read it off by means of the scale and vernier. Both the microscope stand and the turbidometer must be securely fastened to the base board.

The turbidity-standard which we have used is an emulsion of bacteria which has the same turbidity as McFarland's tube No. 5, mentioned above. When it is desired to remove the glass box from its position to change the liquids under observation, the needle is brought toward



the observer by the mechanical stage 'til it nearly touches the end of the glass box. The microscope stand is turned downward to a horizontal position, lifting the rod out of the box. Erecting the body of the microscope will place the rod again in the glass box.

When observations are to be taken, the rod is moved toward the observer 'til it just touches the end of the glass box. The reading for this point is then made and noted. The standard suspension is then placed in the box and its turbidity is read off and noted. Then the turbidity of the vaccine is determined. If the vaccine is more turbid than the standard, weak carbolic acid, 0.2 per cent. is added. If it is less turbid than the standard, more bacteria must be added. We generally aim to have the vaccine more turbid than the standard. The exact amount of diluent to be added is easily determined by dividing the difference of the record of the standard emulsion and instrument record

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

by the difference of the new emulsion (or vaccine) and the instrument record, the turbidities being inversely proportional to each other. The quotient will give the ratio between the two. It is highly advisable to take a number of readings, get the average, and then check the average by a subsequent reading.

As an example, the following is a sample reading from our notes:

Instrument record	85.40
Turbidity of standard emulsion . .	93.04
Turbidity of vaccine	90.42
Real turbidity of standard is therefore	7.64
Real turbidity of vaccine is therefore .	5.02
The ratio between them is therefore .	1.522

So that every 10 cc. of vaccine must be diluted to 15.22 cc.

Our thanks are due Mr. H. H. Morgan, chemist, for services rendered in making the photograph.

Inhalt.

Dawson, Charles F. and **Basset, H. P.**, A turbidometer for estimating the number of bacteria in autogenous vaccines, p. 638.

Lebedeff, W. und **Tscharnotzky, A.**, Ein neuer Parasit im Blute des Iltis, Microsoma mustelae, p. 625.

Meldorf, Gustav, Parasitologische Untersuchungen aus Grönland, p. 632.

Schroeter und **Gutjahr**, Vergleichende Studien der Typhus-Coli-Dysenteriebakterien im Anschluß an eine kleine Ruhrepidemie in Mitteldeutschland, p. 577.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 58. Heft 8.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 58 enthaltenen Arbeiten.

Amison, Elizabeth E. s. **Hadley, Philip B.**
André, Emile, Pseudoparasitisme d'une nymphe d'Hydrachnide. 42
Arnheim, G., Bemerkungen zu der Arbeit von N. Klimenko: „Bakteriologische Untersuchungen des Blutes von keuchhustenkranken Kindern und von mit Keuchhusten infizierten Tieren. 41
Ascoli, Alberto, Die Präzipitindiagnose bei Milzbrand. 63
Barlocco, Amerigo, Diphtherietoxin und Lipolyse durch Organe. 110
—, Weitere Untersuchungen über den Einfluß des Diphtherietoxins auf den autolytischen Prozeß. 43
Basset, H. P. s. **Dawson, Charles F.**
Berké, Parasitologische Studien aus Kamerun. I. Ueber Gastrodiscus aegyptiacus und Spiroptera megastoma. 129
—. Parasitologische Studien aus Kamerun. II. Mikrofilarien von einem Haushuhn. 326
Bertarelli, E. und **Datta, L.,** Experimentelle Untersuchungen über Antituberkulin. 152
v. Betegh, L., Studien über experimentelle Tuberkulose der Meeresfische. IV. Mitteilung. 495
—, Vergleichende Untersuchungen über die Tuberkuloseerreger der Kaltblüter. III. Mitteilung. 3
Bordet, J. et **Gengou, O.,** La coagglutination globules rouges par les mélanges des anticorps et des antigènes albumineux. 330
— —, Le diagnostic de la coqueluche fruste par la méthode de la fixation d'alexine. 573
Bruschettini, A., Die Immunisierung und Behandlung der Tuberkulose. 148
Busson, Bruno, Ein Beitrag zur Kenntnis der Lebensdauer von Bacterium coli und Milzbrandsporen. 505
—, Versuche zur Oberflächensterilisation ganzer Organe für die Gewinnung von Reinkulturen aus diesen. 464
Cannata, S. und **Mitra, M.,** Einfluß einiger Milchfermente auf Vitalität und Virulenz verschiedener pathogener Mikroorganismen. Experimentelle Untersuchungen. 160
Cardamatis, Jean P., Tableaux dressés sur les donnés fournies par 9486 observations cliniques et 4287 au microscope faites l'année dernière 1910. 232
Castellani, Aldo, Observations on fungi of the genus Endomyces affecting man in the tropics. 236
Cler, E. s. **Volpino, G.**
Conradi, H., Zur bakteriologischen Typhusdiagnose. Schlußbemerkung. 238
Crossonini, Ernesto s. **Livierato, Spiro.**
Datta, L. s. **Bertarelli, E.**
Dawson, Charles F. and **Basset, H. P.,** A turbidometer for estimating the number of bacteria in autogenous vaccines. 638
Dennemark, Ueber die Brauchbarkeit der Gruber-Widalschen Reaktion und der Fadenreaktion nach Mandelbaum zur Feststellung abgelaufener Typhusfälle. 354
Doerr, R., Bemerkungen zu der vorläufigen Mitteilung von A. Tedeschi und M. Napolitani „Experimentelle Untersuchungen über die Aetiologie des Sommerfiebers in Bd. 57. Heft 3. p. 208 dieser Zeitschrift. 453
Fränkel, Ernst, Die passive Tuberkulinanaphylaxie bei Meerchweinchen und ihre Unbrauchbarkeit für die Diagnose der Tuberkulose. 460
Fromme, Ueber einen atypischen Typhusstamm. 445
Galli-Valerio, B., Observations microscopiques sur la „Verruga peruana" ou „Maladie de Carrion". 228
—, Sur un Piroplasma d'Erinaceus algirus. 565
— und **Rochaz de Jongh, J.,** Beobachtungen über Culiciden. 125
De Gasperi, F[ederico], Bacillus pappulus. 1
— und **Savini, Emil,** Beitrag zur Züchtungs- und Isolierungstechnik der anaëroben Mikroorganismen. 239
Gengou, O. s. **Bordet, J.**
Gins, H. A., Nachtrag zu meiner Mitteilung: „Ueber die Darstellung von Geißelzöpfen etc." 480
Glenn, T. H., Variation and carbohydrate metabolism of bacilli of the Proteus group. 481
Goldschmidt, B. s. **Scheller, R.**
Gutjahr s. **Schroeter.**
Hadley, Philip B. and **Amison, Elizabeth E.,** Further studies on blackhead in turkeys. 34
Hopffe, Anna, Ueber die Bakterienflora im Verdauungsschlauch von Cricetus fru-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mentarius, unter besonderer Berücksichtigung der anaëroben Fäulniserreger. 289
Horbaczewski, J., Eine Bemerkung zur Arbeit des Herrn Raubitschek: „Zur Kenntnis der Pathogenese der Pellagra". 317
Horowitz, L., Zur Frage über die Diagnose der Choleravibrionen. Ergebnisse der Choleraepidemie in Petersburg 1909 und 1910. 79
Huber, E. s. **Telle, H.**
Klodnitzky, Die Methodik der bakteriologischen Blutuntersuchung bei Infektionskrankheiten. 376
Koidzumi, M., On the „species" of various Frog-Trypanosomes found in Japan. 454
Kostrzewski, J., Ueber die violette Farbe bei hämolytischen Versuchen. 262
Krägel, Ueber die Ruhragglutinine, insbesondere über ihr Verhalten in Krankenseren. 48
Krogh s. **Mentz von Krogh.**
Lebedeff, W. und **Tscharnotzky, A.**, Ein neuer Parasit im Blute des Iltis, Microsoma mustelae. 625
Livierato, Spiro und **Crossonini, Ernesto**, Untersuchungen über die tuberkulösen Exsudate beim Menschen in ihren Beziehungen zur Immunität. 139
Lunz, Roman, Zur Differenzierung der Dysenteriebacillen mittels der Komplementablenkungsmethode. 168
Meldorf, Gustav, Parasitologische Untersuchungen aus Grönland. 632
Mentz von Krogh, Eine neue Methode zur Chromatinfärbung. 95
Mitra, M. s. **Cannata S.**
Müller, Reiner, Mutation bei Typhus- und Ruhrbakterien. Mutation als spezifisches Kulturmerkmal. 97
Niosi, Francesco, Untersuchung eines streng anaëroben Bacillus, ausschließlichen Erregers einer eiterigen Pleuritis. Bakteriologische, experimentelle und histologische Untersuchungen. 193
Nyman, Max s. **Reymann, G. C.**
Ottolenghi, D., Ueber eine neue Methode zur Isolierung der Choleravibrionen aus den Faeces. 369
Poppe, Kurt, Ueber Glyzerolatnährböden. 475
Predtjetschensky, W., Weitere Untersuchungen über den Flecktyphuserreger. 106
Preisz, H., Studien über das Variieren und das Wesen der Abschwächung des Milzbrandbacillus. 510
Reymann, G. C. und **Nyman, Max**, Studien über Desinfektion mit besonderem Hinblick auf die Methode von Krönig und Paul. 339
Rochaz de Jongh, J. s. **Galli-Valerio, B.**
Rosenblat, S., Vergleichende Untersuchungen über neuere Färbungsmethoden der Tuberkelbacillen, nebst einem Beitrag zur Morphologie dieser Mikroorganismen. 173
Rusznyák, St., Untersuchungen über die Wirkungsweise des Antityphusserums. 134
Savini, Emil s. **de Gasperi, Federico.**
Schapiro, L., Ueber die Bindungsweise hämolytischer Ambozeptoren. 469
Scheller, R. und **Goldschmidt, B.**, Experimentelle Beiträge zum Studium des Mechanismus der Immunkörper- und Komplementwirkung. II. Mitteilung. 569
Schilling, Claus, Ein Apparat zur Erleichterung der Romanowsky-Färbung. 264
Schilling, V., Ueber die feinere Morphologie der Kurloff-Körper des Meerschweinchens und ihre Aehnlichkeit mit Chlamydozoen-Einschlüssen. 318
Schöppler, Herrmann, Ueber Ascaris mystax R. beim Menschen. 567
Schroeter und **Gutjahr**, Vergleichende Studien der Typhus-Coli-Dysenteriebakterien im Anschluß an eine kleine Ruhrepidemie in Mitteldeutschland. 577
Stolpp, Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Sterilisatorfleischbrühe von Schlachthöfen zur Verarbeitung zu Nährböden für Bakterienzüchtung, mit besonderer Berücksichtigung der für die bakteriologische Fleischbeschau benötigten Spezialnährböden. 265
Stromberg, Heinrich, Zur Frage über die Umwandlung wichtiger biologischer Eigenschaften bei Bakterien (der Enteritisgruppe). 401
Telle, H. und **Huber, E.**, Kritische Betrachtungen über die Methoden des Indolnachweises in Bakterienkulturen, nebst einem Beitrage zur Frage der Indolbildung durch Typhaceen. 70
Tscharnotzky, A. s. **Lebedeff, W.**
Verderame, Ph., Ueber die Infektion des Auges durch den Bacillus pyocyaneus. 302
Volpino, G. und **Cler, E.**, Die Untersuchung der Wasser auf Typhusbacillen mit dem Komplementfixierungsverfahren. 392
Whitmore, Eugene, R., Vorläufige Bemerkungen über Amöben aus Manila und Saigon. 234
Zlatogoroff, S. J., Ueber die Aufenthaltsdauer der Choleravibrionen im Darmkanal des Kranken und über die Veränderlichkeit ihrer biologischen Eigenschaften. 14
Zweifel, Erwin, Bakteriologische Untersuchungen von rohem Hackfleisch, mit besonderer Berücksichtigung der Bacillen der Paratyphusgruppe. 115

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Sachverzeichnis.

Achorion schönleinii, Favus, Ursache desselben. 633
Agglutination des Bac. dysenteriae. 48. 607
— des Bac. enteritidis Gärtner. 408. 607
— des Bac. paratyphi. 8. 408. 607
— des Bac. tuberculosis durch Exsudate. 143
— des Bac. typhi. 354. 607
— des Bact. coli. 607
—, Ko- s. Koagglutination.
—, Mit- s. Mitagglutination.
— zur Typhusdiagnose. 354
— des Vibrio cholerae. 20. 80
Agglutinine, Ruhr. 48
Alkalifestigkeit des Bac. tuberculosis. 4
Alkohol zur Desinfektion. 467
Alkohol-Festigkeit des Bac. tuberculosis. 4
Ambozeptoren, hämolytische, Bindungsweise. 469
Amoeba s. a. Entamoeba.
— meleagridis, blackhead der Truthühner, Rolle bei derselben. 41
Amöben, Vorkommen in Faeces. 234
—, Vorkommen im Wasser. 234
Anopheles bifurcatus, Brutplätze. 127
— —, Ueberwinterung. 125
— —, Verbreitung. 126
— maculipennis, Brutplätze. 127
— —, Ueberwinterung. 125
— —, Verbreitung. 126
Antagonismus bei Bakterien. 160
Antiformin zur Desinfektion. 467
Antituberkulin. 152
Apparat zur Bakterienzahlbestimmung in Vaccinen. 638
Argentum nitricum s. Silbernitrat.
Ascaris maritima, Vorkommen in Grönland. 637
— mystax beim Menschen. 567
— —, Vorkommen in Grönland. 637
Auge, Bacillus pyocyaneus-Infektion. 302
—, Bindehautentzündung. 632
—, —, durch Bac. pyocyaneus verurs. 303
—, —, durch Diplokokken verurs. 634
—, —, durch Pneumokokken verurs. 634
—, Hornhautabszeß durch Bac. pyocyaneus verurs. 305
—, Hornhautentzündung, durch Bac. pyocyaneus verurs. 307
—, Hornhautringabszeß, durch Bac. pyocyaneus verurs. 305
—, Krankheiten in Grönland. 632
—, Ophthalmie, durch Bac. pyocyaneus verurs. 306
Autolyse, Wirkung von Diphtherietoxin. 43. 110
Bacillenträger, Infektionskrankheiten, Verbreitung derselben. 15
Bacillus s. a. Bacterium.
— acidi lactici, Vorkommen im Magen des Hamsters. 295
— anthracis s. a. Milzbrand.
— —, Abschwächung. 512
— —, Kapselbildung. 514
Bacillus anthracis, Kapselbildung und Virulenz. 553
— —, Kapseln, Färbung. 515
— —, kulturelle Eigenschaften. 512
— —, Lebensdauer im Wasser. 508
— —, Pathogenität. 517. 553
— —, Variation. 510
— —, Virulenz und Kapselbildung. 553
— —, Wirkung von Silbernitrat. 352
— —, — von Sublimat. 352
— —, — der Temperatur. 535
— botulinus, Wurstvergiftung, Ursache derselben. 117
— buccalis maximus, Vorkommen in der Mundhöhle. 635
— bulgarus, Wirkung auf Bac. dysenteriae. 162
— —, — auf Bac. fluorescens. 162
— —, — auf Bac. paratyphi. 164
— —, — auf Bac. prodigiosus. 162
— —, — auf Bac. pyocyaneus. 162
— —, — auf Bac. typhi. 164
— —, — auf Bact. coli. 164
— —, — auf Proteus vulgaris. 162
— —, — auf Staphylococcus pyogenes aureus. 162
— butyricus, Wirkung auf Bac. dysenteriae. 162
— —, — auf Bac. fluorescens. 162
— —, — auf Bac. paratyphi. 164
— —, — auf Bac. prodigiosus. 162
— —, — auf Bac. pyocyaneus. 162
— —, — auf Bac. typhi. 164
— —, — auf Bact. coli. 164
— —, — auf Proteus vulgaris. 162
— —, — auf Staphylococcus pyogenes aureus. 162
— cloacae s. Proteus cloacae.
— coli s. a. Bacterium coli.
— —, Fleischvergiftung, Ursache derselben. 117
— —, Indolbildung. 489
— diphtheriae, Toxin, Wirkung auf die Autolyse. 43. 110
— —, — Wirkung auf die Lipolyse. 110
— dysenteriae s. a. Ruhr.
— —, Agglutination. 48. 607
— —, Differentialdiagnose. 579
— —, Differenzierung mittels Komplementbildung. 168. 613
— —, kulturelle Eigenschaften. 581
— —, Mutation. 102
— —, Variation. 601
— —, Wirkung von Bac. bulgarus. 162
— —, — von Bac. butyricus. 162
— —, — von Bac. subtilis. 162
— —, — von Milchsäurebakterien. 162
— —, — von Monococcus. 162
— enteritidis Gärtner, Agglutination. 408. 607
— — —, Differentialdiagnose. 442. 579
— — —, Indolbildung. 76
— — —, Komplementbindung. 616

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bacillus enteritidis Gärtner, Fleischvergiftung, Ursache derselben. 116
— —, kulturelle Eigenschaften. 403. 581
— —, Variation. 401
— fluorescens, Wirkung von Bac. bulgarus. 162
— —, — von Bac. butyricus. 162
— —, — von Bac. subtilis. 162
— —, — von Milchsäurebakterien. 162
— —, — von Monococcus. 162
— — aureus, Vorkommen im Magen des Hamsters. 294
— — liquefaciens, Lebensdauer im Wasser. 508
— — —, Vorkommen im Magen des Hamsters. 292
— liodermis, Vorkommen im Darme des Hamsters. 295
— megatherium, Vorkommen im Darme des Hamsters. 292
— —, — im Magen des Hamsters. 292
— mesentericus, Vorkommen im Magen des Hamsters. 292
— — vulgatus, Vorkommen im Magen des Hamsters. 291
— multipediculus, Vorkommen im Darme des Hamsters. 295
— mycoides, Vorkommen im Darme des Hamsters. 294
— —, — im Magen des Hamsters. 291
— pappulus n. sp., kulturelle und morphologische Eigenschaften. 1
— — —, Vorkommen in Würsten. 1
— paratyphi, Agglutination. 408. 607
— —, Differentialdiagnose. 442. 579
— —, Fleischvergiftung, Ursache derselben. 115
— —, Indolbildung. 76
— —, Komplementbindung. 615
— —, kulturelle Eigenschaften. 403. 581
— —, Mutation. 103
— —, Variation. 401
— —, Wirkung von Bac. bulgarus. 164
— —, — von Bac. butyricus. 164
— —, — von Bac. subtilis. 164
— —, — von Milchsäurebakterien. 164
— —, — von Monococcus. 164
— perfringens, Kultur, Isolierung. 259
— prodigiosus, Wirkung von Bac. bulgarus. 162
— —, — von Bac. butyricus. 162
— —, — von Bac. subtilis. 162
— —, — von Milchsäurebakterien. 162
— —, — von Monococcus. 162
— proteus s. Proteus.
— pseudodysenteriae, Mutation. 102
— pseudosubtilis, Vorkommen im Darme des Hamsters. 292.
— —, — im Magen des Hamsters 292
— psittacosis, Indolbildung. 76
— putrificus, Eiweißfäulnis, Rolle bei derselben. 298
— —, Kultur, Isolierung. 259
— pyocyaneus, Augeninfektion. 302
— —, Farbstoffbildung. 304
— —, Hypopyonkeratitis, Ursache derselben. 307
Bacillus pyocyaneus, Ophthalmie, Ursache derselben. 306
— —, Toxinbildung. 305
— —, Vorkommen im Fleische. 120
— —, Wirkung von Bac. bulgarus. 162
— —, — von Bac. butyricus. 162
— —, — von Bac. subtilis. 162
— —, — von Milchsäurebakterien. 162
— —, — von Monococcus. 162
— subtilis, Vorkommen im Darme des Hamsters. 292
— —, — im Magen des Hamsters. 291
— —, Wirkung auf Bac. dysenteriae. 162
— —, — auf Bac. fluorescens. 162
— —, — auf Bac. paratyphi. 164
— —, — auf Bac. prodigiosus. 162
— —, — auf Bac. pyocyaneus. 162
— —, — auf Bac. typhi. 164
— —, — auf Bacterium coli. 164
— —, — auf Proteus vulgaris. 162
— —, — auf Staphylococcus pyogenes aureus. 162
— suipestifer, Indolbildung. 76
— tuberculosis s. a. Tuberkulose.
— —, Agglutination durch Exsudate. 143
— —, Alkalifestigkeit. 4
— —, Alkoholfestigkeit. 4
— —, der Blindschleiche, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 9
— —, chemische Zusammensetzung. 175
— —, Färbung. 173. 503
— —, der Fische, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 7
— — des Frosches, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 5
— —, granuläre Form. 174. 503
— —, Morphologie. 4. 173. 503
— —, Säurefestigkeit. 4
— — der Schildkröte, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 10
— typhi s. a. Typhus abdominalis.
— —, Agglutination. 354. 607
— —, atypischer. 445
— —, Differentialdiagnose. 579
— —, Indolbildung. 76
— —, Komplementbindung. 392. 615
— —, — zum Nachweise im Wasser. 392
— —, kulturelle Eigenschaften. 581
— —, Mutation. 97
— —, Nachweis im Wasser. 392
— —, Vorkommen im Wasser. 392
— —, Wirkung von Bac. bulgarus. 164
— —, Wirkung von Bac. butyricus. 164
— —, — von Bac. subtilis. 164
— —, — von Milchsäurebakterien. 164
— —, — von Monococcus 164
— — murium, Indolbildung. 76
— — mutabilis, Eigenschaften. 105. 445
— — suis, Indolbildung. 76
— Zenkeri s. Proteus Zenkeri.
Bacterium coli s. a. Bacillus coli.
— —, Agglutination. 607
— —, Differentialdiagnose. 579
— —, Komplementbindung. 616
— —, kulturelle Eigenschaften. 581
— —, Lebensdauer im Wasser. 505
— —, Vorkommen im Wasser. 505

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bacterium coli, Wirkung von Bac. bulgarus. 164
— —, — von Bac. butyricus. 164
— —, — von Bac. subtilis. 164
— —, — von Milchsäurebakterien. 164
— —, — von Monococcus. 164
— — commune, Darmkatarrh, Ursache desselben. 635
— — —, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 636
— — —, Vorkommen im Darme des Hamsters. 292
— — —, — im Harne. 636
— — —, — im Magen des Hamsters. 291
— — mutabile, Eigenschaften. 98
— güntheri, Vorkommen im Darme des Hamsters. 292
— —, — im Magen des Hamsters. 292
— lactis aërogenes, Vorkommen im Darme des Hamsters. 292
— — —, — Vorkommen im Magen des Hamsters. 291
— typhi mutabile s. Bac. typhi mutabiles.
Bakteriämie. 376
— bei Keuchhusten. 41
Bakterien, anaërobe, Eiterung, Ursache derselben. 193. 242
—, —, Eiweißfäulnis, Ursache derselben. 295
—, —, Isolierung. 239
—, —, Kultur. 204. 239. 296.
—, —, Pathogenität. 194. 242
—, —, Pleuritis, Ursache derselben. 202
—, —, Vorkommen im Magendarmkanal des Hamsters. 295
—, Antagonismus. 160
—, Färbung. 4. 96. 173. 503. 515
—, Farbstoffbildung. 304. 596
—, Fleischvergiftung, Ursache derselben. 115
—-Flora des Darmes des Hamsters. 289
— — des Darmes des Hamsters bei verschiedener Ernährung. 291
— — des Magens des Hamsters. 289
— — des Magens des Hamsters bei verschiedener Ernährung. 291
—, Gasbildung. 592
—, Geißeldarstellung mittels Tuscheverfahrens. 480
—, hämolytische Wirkung. 80. 262
—, Indolbildung. 70. 489. 594
—, Kapselbildung. 514
—, Kapseln, Darstellung mittels Tucheverfahrens. 480. 514
—, Kohlehydratvergärung. 598
—, Kultur. 204. 239. 265. 296. 369. 382. 464. 475
—, — Rein-, Gewinnung aus Geweben und Organen. 464
—, Lebensdauer im Wasser. 505
—, Milchsäure-, zur Behandlung von Darmkrankheiten. 161
—, —, Vorkommen im Darme des Hamsters. 292
—, —, — im Magen des Hamsters. 291
—, —, Wirkung auf Bac. dysenteriae. 162
Bakterien, Milchsäure-, Wirkung auf Bac. fluorescens. 162
—, —, — auf Bac. paratyphi. 164
—, —, — auf Bac. prodigiosus. 162
—, —, — auf Bac. pyocyaneus. 162
—, —, — auf Bac. typhi. 164
—, —, — auf Bact. coli. 164
—, —, — auf pathogene Mikroorganismen. 160
—, —, — auf Proteus vulgaris. 162
—, —, — auf Staphylococcus pyogenes aureus. 162
—, Mutation. 97. 401
—, Nahrungsmittelvergiftung, Ursache derselben. 115
—, Proteinochrombilduug. 596
—, Stoffwechsel. 481
—, Symbiose. 80. 164
—, Umwandlung biolog. Eigenschaften. 401
—, Variation. 401. 481. 510. 601
—, Vergärung von Kohlehydraten. 598
—, Vorkommen im Blute. 41. 108. 376
—, — im Darme des Hamsters. 289
—, — Vorkommen in den Faeces. 14. 80. 369. 579
—, — im Fleische. 115
—, — im Harne. 108. 636
—, — im Magen des Hamsters. 289
—, — im Wasser. 392. 505
—, — in Wurst. 1. 117
—, Wirkung von Silbernitrat. 352. 467
—, — von Sublimat. 352
Bakteriolyse. 91
Bakteriurie. 108. 636
Bindehautentzündung s. Auge, Bindehautentzündung.
Blackhead bei Truthühnern. 34
Blindschleichen, Tuberkulose. 9
Blut, Bakterien in demselben. 41. 108. 376.
—, bakteriologische Untersuchung bei Infektionskrankheiten. 376
—-Körperchen, rote, Koagglutination. 330
—, Microsoma mustelae in demselben beim Iltis. 625
—, Mikrofilarien in demselben beim Huhne. 326
Bothriocephalus cordatus, Vorkommen in Grönland. 637
— latus, Vorkommen in Grönland. 637
Botulismus. 117
Bouillon, Sterilisator-, zur Nährbodenherstellung. 265
Bronchomykosis, durch Endomyces verursacht. 236
Carrions Krankheit s. Verruga peruana.
Chlamydozoen und Kurloff-Körper. 318
Cholera s. a. Vibrio cholerae.
—, Diagnose, bakteriologische. 79
—, Epidemie in Petersburg. 79
—, Immunisierung. 86
—, Verbreitung durch Vibrionenträger. 15
Chromatin, Färbung. 95
Conjunctivitis s. Auge, Bindehautentzündung.
Crenilabrus pavo, Tuberkuloseinfektionsversuch. 497

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Cricetus frumentarius, Bakterienflora des Darmes und Magens. 289
Culex, Ueberwinterung. 125
— cantans, Eiablage. 128
— nemorosus, Brutplätze. 127
— pipiens, Brutplätze. 127
Culiciden, Bekämpfung. 128
—, Brutplätze. 126
—, Stiche. 127
—, Ueberwinterung. 125
—, Verbreitung. 126
Cygnus olor, Hydrachniden-Larve im Darme desselben. 43
Dampf zur Sterilisation. 467
Darm, Ascaris mystax in demselben beim Menschen. 567
—, Bakterienflora beim Hamster. 289
—, Gastrodiscus aegyptiacus in demselben beim Pferde. 130
—, Hydrachniden-Larve in demselben. 42
— -Katarrh, Bakteriologie. 635
— -Krankheiten, Behandlung mit Milchsäurebakterien. 161
— -Parasiten. 637
— — des Pferdes. 129
—, Piona-Larve in demselben. 42
—, Spiroptera megastoma in demselben beim Pferde. 132
Desinfektion. 339
— mit Alkohol. 467
— mit Antiformin. 467
— mit Argentum nitricum. 351. 467
— mit Dampf. 467
— mit Formalin. 467
— von Geweben. 464
— von Instrumenten. 464
— mit Jod. 467
— mit Kalilauge. 467
— mit Lysoform. 467
— mit Lysol. 467
— mit Morbizid. 467
— mit Natronlauge. 467
— von Organen. 464
— mit Salizylsäure. 467
— mit Silbernitrat. 351. 467
— mit Sublimat. 351
Desinfizientien, Wertbestimmung. 339
Diphtherie-Toxin, Wirkung auf die Autolyse. 43. 110
—, — auf die Lipolyse. 110
Diplococcus, Vorkommen im Darme des Hamsters. 292
Diplokokken, Bindehautentzündung, Ursache derselben. 634
Eiterung. 632
—, durch anaërobe Bakterien verursacht. 193. 242.
Eiweiß-Fäulnis, durch anaërobe Bakterien verursacht. 295
Ekzema seborrhoicum capitis, Bakteriologie. 633
Endometritis, Bakteriologie. 636
Endomyces, Bronchomykosis, Ursache derselben. 236
— paratropicalis, kulturelle Eigenschaften. 236
Endomyces pseudotropicalis, kulturelle Eigenschaften. 236
— tropicalis, kulturelle Eigenschaften. 236
Entamoeba coli. 235
— histolytica. 235
— tetragena. 235
Erinaceus algirus, Piroplasma weissii in demselben. 565
Ernährung, Wirkung auf die Bakterienflora des Darmes und Magens beim Hamster. 291
Exsudat, tuberkulöses, Agglutinine in demselben. 143
—, —, antitoxisches Vermögen. 141
—, —, zur Immunisierung. 141
—, —, Komplementbindung. 143
—, —, opsonischer Index. 144
—, —, Präzipitationsvermögen. 143
Fadenreaktion zur Typhusdiagnose. 354
Faeces, Amöben in denselben. 234
—, Bakterien in denselben. 14. 80. 369. 579
—, Vibrio cholerae-, Nachweis in denselben. 80. 369
Färbung, Apparat zur Färbung. 264
— der Bac. anthracis-Kapseln. 515
— des Bac. tubercul. 173. 503
— der Bakterien. 4. 96. 173. 503. 515
— des Chromatins. 95
— der Negrischen Körperchen. 96
— der Protozoen. 95
Fäulnis, Eiweiß-, durch anaërobe Bakterien verursacht. 295
Farbstoff, Bildung durch Bac. pyocyaneus. 304
—, Bildung durch Bakterien. 304. 596
Favus. 633
Fieber, Sommer-, s. Sommerfieber.
Filarien s. Mikrofilarien.
Fische, Tuberkulose. 7. 495
Flecktyphus s. Typhus exanthematicus.
Fleisch, Bac. proteus in demselben. 120
—, Bac. pyocyaneus in demselben. 120
—, Bakterien in demselben. 115
— -Beschau, bakteriol. 118. 265. 464
— -Brühe s. a. Bouillon.
—, Hack-, s. Hackfleisch.
— -Nahrung, Wirkung auf die Bakterienflora des Darmes und Magens beim Hamster. 295
— -Vergiftung, durch Bac. botulinus verursacht. 117
— —, durch Bac. coli verursacht. 117
— —, durch Bac. enteritidis verursacht. 116
— —, durch Bac. paratyphi verursacht. 115
— —, durch Proteus verursacht. 117
Formalin zur Desinfektion. 467
Frosch, Trypanosana rotatorium bei demselben. 455
—, Trypanosomiasis. 454
—, Tuberkulose. 5
Galle zur Vibrio cholerae- Anreicherung. 369
Gas, Bildung durch Bakterien. 592
Gastrodiscus aegyptiacus im Magendarmkanal des Pferdes. 130

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gastrodiscus polymastos s. G. aegyptiacus.
— sonsinoi s. G. aegyptiacus.
Geißeln, Darstellung mittels Tuscheverfahrens. 480
Gewebe, Reinkulturgewinnung aus demselben. 464
Glyzerolatnährböden. 475
Gonorrhöe, Urethritis gonorrhoica. 636
Grönland, Krankheiten. 632
Hackfleisch, bakteriologische Untersuchungen. 115
Hämaturie. 636
Hämolyse. 469. 569
— durch Bakterien. 80. 262
— durch Proteus. 262
— durch Vibrio cholerae. 80
—, violette Farbe bei hämolyt. Versuchen. 262
Hamster s. Cricetus frumentarius.
Harn, Bakteriurie. 108. 636
—, Hämaturie. 636
Harnröhre, Urethritis gonorrhoica. 636
Haushuhn s. Huhn.
Haut, Ekzema seborrhoicum capitis. 633
—, Favus. 633
—, Herpes tonsurans. 633
—-Krankheiten in Grönland. 633
—, Verruga peruana. 228
Hefe, Vorkommen im Magen des Hamsters. 291
Herpes tonsurans. 633
Hornhautabszeß s. Auge, Hornhautabszeß.
Huhn, Mikrofilarien bei demselben. 326
Hydrachniden-Larve, Pseudoparasitismus im Darme von Cygnus olor. 42
Hypopyonkeratitis, durch Bac. pyoyaneus verurs. 307
Igel s. Erinaceus.
—, Piroplasmose. 565
Iltis, Microsoma mustelae n. sp. im Blute desselben. 625
Immunisierung. 638
— gegen Cholera. 86
— gegen Ruhr. 605
— gegen Tuberkulose. 139. 148. 152
— gegen Typhus abdominalis. 134
Immunkörper, Wirkungsmechanismus. 569
Impetigo, Bakteriologie. 633
Index, opsonischer, tuberkulöser Exsudate. 144
Indol, Bildung durch Bac. coli. 489
—, Bildung durch Bakterien. 70. 489. 594
—, Bildung durch Proteus. 489
—, Nachweis. 70
Infektionskrankheiten, Diagnose, bakteriol. 376
—, Verbreitung durch Bacillenträger. 15
—, Vorkommen in Grönland. 632
Instrumente, Desinfektion. 464
—, Sterilisierung. 464
Jod zur Desinfektion. 467
Kalilauge zur Desinfektion. 467
Kaltblüter, Tuberkulose. 3. 495
Kapseln, Bakterien-, Darstellung mittels Tuscheverfahrens. 480. 514
—, Bildung bei Bac. anthracis. 514
Keuchhusten, Bakteriämie. 41
—, Diagnose mittels Komplementbindung. 573
—, Serumdiagnose. 573
Knochen, Ostitis. 632
—, Periostitis. 632
Koagglutination roter Blutkörperchen. 330
Körper, Kurloffsche s. Kurloff-Körper.
Körperchen, Negrische, Färbung. 96
Kohlehydrate, Vergärung durch Bakterien. 598
Komplement, Wirkungsmechanismus. 569
Komplementbindung. 469
— mit Bac. dysenteriae. 168. 613
— mit Bac. enteritidis Gärtner. 616
— mit Bac. paratyphi. 615
— mit Bac. typhi. 392. 615
— mit Bact. coli. 616
— zur Differenzierung von Bac. dysenteriae. 168. 613
— zur Keuchhustendiagnose. 573
— zur Syphilisdiagnose, Fehlerquellen. 573
— mit tuberkulösen Exsudaten. 143
— bei Tuberkulose. 153
— zum Typhusbacillennachweis im Wasser. 392
— bei Vibrio cholerae. 80
Kurloff-Körper und Chlamydozoen. 318
— — des Meerschweinchens, Morphologie. 318
Leptothrix innominata, Vorkommen in der Mundhöhle. 635
Lipase, Wirkung. 110
Lipolyse, Wirkung von Diphtherietoxin. 110
Lysoform zur Desinfektion. 467
Lysol zur Desinfektion. 467
Magen, Bakterienflora beim Hamster. 289
—, Gastrodiscus aegyptiacus in demselben beim Pferde. 130
—, Spiroptera megastoma in demselben beim Pferde. 132
Maladie de Carrion s. Verruga peruana.
Malaria. 232.
Meeres-Fische, Tuberkulose. 495
Meerschweinchen, Kurloffsche Körper. 318
Micrococcus agilis, Vorkommen im Magen des Hamsters. 292
— candicans, Vorkommen im Darme des Hamsters. 294
— luteus, Vorkommen im Magen des Hamsters. 291
— roseus, Vorkommen im Magen des Hamsters. 292
— tetragenus, Vorkommen im Darme des Hamsters. 294
Microsoma mustelae n. sp. im Blute des Iltis. 625
Mikrofilarien beim Haushuhn. 326
Milch-Fermente, Wirkung auf pathogene Mikroorganismen. 160
Milchsäure-Bakterien s. Bakterien, Milchsäure.
Milzbrand s. a. Bacillus anthracis.
—, Diagnose mittels Präzipitation. 63
Mitagglutination. 610

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Monococcus, Wirkung auf Bac. dysenteriae. 162
—, — auf Bac. fluorescens. 162
—, — auf Bac. paratyphi. 164
—, — Wirkung auf Bac. prodigiosus. 162
—, — auf Bac. pyocyaneus. 162
—, — auf Bac. typhi. 164
—, — auf Bact. coli. 164
—, — auf Proteus vulgaris. 162
—, — auf Staphylococcus aureus. 162
Morbizid zur Desinfektion. 467
Mücken s. a. Culiciden.
—, Bekämpfung. 128
— Stiche. 127
Mugil cephalus, Tuberkuloseinfektionsversuch. 498
Mund, Stomatitis aphthosa. 634
Mutation bei Bacillus dysenteriae. 102
— bei Bac. paratyphi B. 103
— bei Bac. pseudodysenteriae. 102
— bei Bac. typhi. 97
— bei Bakterien. 97. 401
Nährböden, Glyzerolat. 475
—, Herstellung aus Sterilisatorfleischbrühe. 265
Nahrungsmittel-Vergiftung, durch Bakterien verursacht. 115
Natronlauge zur Desinfektion. 467
Oberflächensterilisation ganzer Organe zur Reinkulturgewinnung. 464
Ophthalmie, durch Bac. pyocyaneus verursacht. 306
Opsonine, Index bei tuberkulösen Exsudaten. 144
Organe, Reinkulturgewinnung aus denselben. 464
—, Sterilisation ihrer Oberflächen. 464
Ostitis. 632
Oxyuris vermicularis, Vorkommen in Grönland. 636
Pagellus erythrimus, Tuberkuloseinfektionsversuch. 497
Panophthalmie, durch Bac. pyocaneus verursacht. 306
Pappatacifieber und Sommerfieber, Beziehungen. 453
Parasiten, Darm. 637
—, Darm- des Pferdes. 129
Pellagra, Aetiologie. 317
Periostitis. 632
Pferd, Darm-Parasiten. 129
—, Gastrodiscus aegyptiacus im Darme und Magen desselben. 129
—, Spiroptera megastoma im Darme und Magen desselben. 132
Piona-Larve, Pseudoparasitismus im Darme von Cygnus olor. 42
Piroplasma weissii in Erinaceus algirus. 565
Piroplasmose des Igels. 565
Plasma-Kugeln. 629
Pleuritis, eitrige, durch Anaëroben verursacht. 202
— putrida, Bakteriologie. 198
Pneumokokken, Bindehautentzündung, Ursache derselben. 634
Points, marginal (Theiler). 629
Präzipitation zur Milzbranddiagnose. 63
— durch tuberkulöse Exsudate. 143
Proteinochrom, Bildung durch Bakterien. 596
Proteus, Fleischvergiftung, Ursache derselben. 117
— -Gruppe, Stoffwechsel. 481
— —, Variation. 481
—, hämolytische Wirkung. 262
—, violette Farbe bei hämolytischen Versuchen, Ursache derselben. 262
—, Vorkommen im Fleische. 120
—, Vorkommen im Magen des Hamsters. 292
— cloacae, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 486
— mirabilis, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 486
— vulgaris, Darmkatarrh, Ursache desselben. 635
— —, Indolbildung. 489
— —, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 486
— —, Vorkommen im Darme des Hamsters. 292
— —, Wirkung von Bac. bulgarus. 162
— —, — von Bac. butyricus. 162
— —, — von Bac. subtilis. 162
— —, — von Milchsäurebakterien. 162
— —, — von Monococcus. 162
— zenkeri, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 486
— —, Vorkommen im Darme des Hamsters. 293
Protozoen, Färbung. 95
Psoroptes longirostris, Scabies, Ursache derselben. 633
Puerperalfieber. 636
Pyämie. 377
Rinder, Tuberkulose. 637
Ruhr, Amöben-. 234
—, bakterielle, Agglutinine. 48
—, —, Epidemie in Deutschland (Mittel-). 577
—, —, Immunisierung. 605
Rußland, Cholera. 79
Säurefestigkeit des Bac. tubercul. 4
Salicylsäure zur Desinfektion. 467
Sarcina lutea, Symbiose mit Vibrio cholerae. 80
— —, Vorkommen im Darme des Hamsters. 292
— —, — im Magen des Hamsters. 291
Sarcoptes scabiei, Krätze, Ursache derselben. 633
Scabies, durch Psoroptes longirostris verursacht. 633
—, durch Sarcoptes scabiei verursacht. 633
Schildkröten, Tuberkulose. 10
Septikämie. 377
Serumbehandlung der Tuberkulose. 148. 157
— des Typhus abdominalis. 134
Serumdiagnose des Keuchhustens. 573
— des Milzbrandes. 63
— der Syphilis, Fehlerquellen. 573
— des Typhus abdominalis. 354
Silbernitrat zur Desinfektion. 351. 467

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Silbernitrat, Wirkung auf Bakterien. 352
Sommerfieber, Aetiologie. 453
— und Pappatacifieber, Beziehungen. 453
Spirillum sputigenum, Vorkommen in der Mundhöhle. 635
Spiroptera megastoma im Magendarmkanal des Pferdes. 132
St. Petersburg, Cholera. 79
Staphylococcus pyogenes aureus, Wirkung von Bac. bulgarus. 162
— — —, — von Bac. butyricus. 162
— — —, — von Bac. subtilis. 162
— — —, — von Milchsäurebakterien. 162
— — —, — von Monococcus. 162
Sterilisation von Geweben. 464
— von Instrumenten. 464
—, Oberflächen- ganzer Organe zur Reinkulturgewinnung. 464
— von Organen. 464
Sterilisatorfleischbrühe zur Nährbödenherstellung. 265
Stomatitis aphthosa, Bakteriologie. 634
Sublimat zur Desinfektion. 351
—, Wirkung auf Bakterien. 352
Symbiose. 80. 164
Syphilis, Diagnose mittels Komplementbindung, Fehlerquellen. 573
—, Serumdiagnose, Fehlerquellen. 573
Temperatur, Wirkung auf Bac. anthracis. 535
Toxin, Bildung durch Bac. pyocyaneus. 305
—, Diphtherie-, Wirkung auf die Autolyse. 43. 110
—, —, — auf die Lipolyse. 110
Trichophyton tonsurans, Herpes tonsurans, Ursache derselben. 633
Truthahn, blackhead. 34
Trypanosoma rotatorium beim Frosche. 455
Trypanosomiasis beim Frosche. 454
Tuberkulin-Reaktion, subkutane, diagnostische Bedeutung. 460
Tuberkulin, Tuberkulosebehandlung. 152
— zur Tuberkulosediagnose. 460
— -Ueberempfindlichkeit, passive. 460
Tuberkulose s. a. Bacillus tuberculosis.
Tuberkulose. 636
—, Behandlung mit Serum. 148. 157
—, — mit Tuberkulin. 152
— der Blindschleichen. 9
—, Crenilabrus paro- Infektionsversuch. 497
—, Diagnose mittels Tuberkulins. 460
—, — mittels Ueberempfindlichkeit (Tuberkulin). 460
—, Exsudat, Agglutinine in demselben. 143
—, —, antitoxisches Vermögen. 141
—, — zur Immunisierung gegen T. 141
—, —, Komplementbindung. 143
—, —, opsonischer Index desselben. 144
—, —, Präzipitationsvermögen. 143
— der Fische. 7. 495
— der Fische des Meeres. 495
— des Frosches. 5
—, Immunisierung. 139. 148. 152
— der Kaltblüter. 3. 495
—, Komplementbindung. 153
—, Mugil cephalus-Infektionsversuch. 498
Tuberkulose, Pagellus erythrinus-Infektionsversuch. 497
— der Rinder. 637
— der Schildkröten. 10
—, Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit. 460
Turbidometer zur Messung der Bakterienzahl bei autogenen Vaccinen. 638
Tuscheverfahren zur Geißeldarstellung. 480
— zur Kapseldarstellung bei Bakterien. 480. 514
—, Verwendbarkeit. 480
Typhus abdominalis s. a. Bacillus typhi.
— abdominalis. 445
— —, Behandlung mit Serum. 134
— —, Diagnose mittels Agglutination (Widal). 354
— —, —, bakteriol. 238. 386
— —, — mittels Fadenreaktion. 354
— exanthematicus, Erreger. 106
Ueberempfindlichkeit, Tuberkulin-. 460
— zur Tuberkulosediagnose. 460
Urethritis gonorrhoica. 636
Uterus, Endometritis. 636
Vaccination. 638
—, Bakterienzahlbestimmung bei derselben. 638
Variation bei Bac. anthracis. 510
— bei Bac. dysenteriae. 601
— bei der Bac. enteritidis-Gruppe. 401
— bei Bac. paratyphi. 401
— bei Bakterien. 401. 481. 510. 601
— der Proteus-Gruppe. 481
Verruga peruana, bakteriologische Untersuchungen. 228
Vibrio cholerae s. a. Cholera.
Vibrio cholerae, Agglutination. 20. 80
— —, Anreicherung mittels Galle. 369
— —, Aufenthaltsdauer im Darmkanal. 14
— —, Ausscheidungsdauer aus dem Darmkanal. 14
— —, Biologie. 14
— —, Differentialdiagnose. 79
— —, hämolytische Wirkung. 80
— —, Komplementbindung. 80
— —, Morphologie. 18. 80
— —, Nachweis. 79
— —, — in den Faeces. 80. 369
— —, Nitrosoindolreaktion. 80
— —, Symbiose mit Sarcina lutea. 80
— — -Träger, Verbreitung der Cholera. 15
— —, Veränderungen im Organismus. 18
Wasser, Amöben in demselben. 234
—, Bakterien in demselben. 392. 505
—, Lebensdauer von Bac. anthracis in demselben. 508
—, — von Bac. fluorescenz liquefac. in demselben. 508
—, — von Bact. coli in demselben. 505
—, — von Bakterien in demselben. 505
—, Typhusbacillennachweis in demselben. 392
Wurst, Bac. pappulus in demselben. 1
—, Bakterien in derselben. 1. 117
— -Vergiftung, durch Bac. botulinus verursacht. 117
Wut, Negrische Körperchen, Färbung. 96

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Apparat zur Bakterienzahlschätzung in autogenen Vaccins. 639
— zur Präzipitindiagnose des Milzbrandes. 68
— zur Romanowsky-Färbung. 264
Asbestfilter zur Präzipitindiagnose des Milzbrandes. 68
Bacillus anthracis, Morphologie. (Taf. I, II.) 564
— —, Variation. (Taf. I, II.) 564
— pappulus n. sp., Morphologie. (Taf.) 2
— tuberculosis der Blindschleiche, kultur. u. morphologische Eigenschaften. (Taf. I—III.) 14
— — der Fische, kulturelle und morphologische Eigenschaften (Taf. I—III.) 14
— — des Frosches, kulturelle und morphologische Eigenschaften. (Taf. I—III.) 14
— — der Schildkröte, kulturelle und morphologische Eigenschaften. (Taf. I—III.) 14
— typhi, kulturelle Eigenschaften. (Taf. I, II.) 98
— —, Mutation. (Taf. I, II.) 98
Bakterien, anaërobe, Kultur. 205. 208. 250.
— im Eiter. 203. 205. 208
Eiter, bakteriologische und mikroskopische Untersuchung. 203. 205. 208
Endomyces tropicalis. 237
Färbung, Romanowsky-, Apparat zur Erleichterung derselben. 264
Filarien s. Mikrofilarien.
Filter, Asbest-, zur Präzipitindiagnose des Milzbrandes. 68
Fische, Tuberkulose. [Leberschnitt.] 499. 500
Fleisch-Sterilisator. 269
Frosch-Trypanosomen. (Taf.) 460
Gastrodiscus aegyptiacus. 129
Granula Kochs. 629
Körper, Guarnierische. (Taf. II, Fig. 20, 21.) 325
—, Kurloffsche. (Taf. I, II.) 325
Kurloff-Körper. (Taf. I, II.) 325
Leber, Tuberkulose. 499. 500
Maladie de Carrion s. Verruga peruana.
Microsoma mustelae n. sp. im Blute des Iltis. (Taf.) 626
Mikrofilarien eines Haushuhnes. (Taf.) 330
Milzbrandpräzipitindiagnose, Apparate für dieselbe. 68
Pipette. 250
— zur Präzipitindiagnose des Milzbrandes. 68
Piroplasma weissii bei Erinaceus algirus. 566
Plasma-Kugeln. 629
Points, marginal (Theiler). 629
Präzipitindiagnose des Milzbrandes, Apparate für dieselbe. 68
Sterilisator für Fleisch. 269
Trypanosomen, Frosch-. (Taf.) 460
Tuberkulose der Fische. [Leberschnitt.] 499. 500
Turbidometer. 639
Verruga peruana. 230

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 3894

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-14 19:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-14 19:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA
589.05CE C001
ZENTRALBLATT FUR BAKTERIOLOGIE, PARASITE
58 1911
3 0112 009814549

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-14 19:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814549
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google